

Informe Técnico-Científico sobre los Usos e Impactos del Insecticida Clorpirifos en Argentina

PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”

Argentina. Marzo 2021.



Ministerio de Ambiente
y Desarrollo Sostenible
Argentina



CONICET



C I T A A C

Ficha del ISBN

Informe técnico-científico sobre el uso e impactos del insecticida clorpirifos en Argentina /
Andrés Venturino ... [et al.]; dirigido por Andrés Venturino; coordinación general de Melina Álvarez. - 1a ed. -
Buenos Aires: Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo - PNUD; Ministerio de Ambiente y Desarrollo
Sostenible de la Nación, 2021.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-1560-86-8

1. Ambiente. 2. Contaminante. 3. Insecticidas. I. Venturino, Andrés, dir. II. Álvarez, Melina, coord.
CDD 363.7063

El presente informe ha sido realizado a solicitud del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación (MAYDS) en el marco de la ejecución del Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”.

El análisis y las recomendaciones de políticas de esta publicación no reflejan necesariamente las opiniones del Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo, de su Junta Ejecutiva o de sus Estados Miembro.

Todos los derechos están reservados. Ni esta publicación ni partes de ella pueden ser reproducidas mediante cualquier sistema o transmitidas, en cualquier forma o por cualquier medio, sea este electrónico, mecánico, de fotocopiado, de grabado o de otro tipo, sin permiso escrito previo del editor.

Hecho el depósito que establece la Ley Nº 11723.

Se agradecen las contribuciones de Alemania, Austria, Bélgica, Dinamarca, Los Estados Unidos de América, Finlandia, Noruega, Países Bajos, Reino Unido, Suiza y la Unión Europea al fondo del Programa Especial.

Copyright © Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, 2021

Esmeralda 130, Piso 13, C1035ABD

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

www.pnud.org.ar





Autoridades

Presidente de la Nación

Alberto Fernández

Vicepresidenta de la Nación

Cristina Fernández de Kirchner

Jefe de Gabinete de Ministros

Santiago Cafiero

Ministro de Ambiente
y Desarrollo Sostenible

Juan Cabandié

Titular de la Unidad
de Gabinete de Asesores

María Soledad Cantero

Secretaría de Control
y Monitoreo Ambiental

Sergio Federovisky

Dirección Nacional de Sustancias
y Productos Químicos

Jorge Luis Etcharrán

AUTORES

Equipo científico-técnico del Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue:

Dr. Andrés Venturino: Dirección CITAAC. Dr. de la Universidad de Buenos Aires, Investigador principal CONICET, Profesor Asociado Regular en Química Biológica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Ana María Pechen: Vicedirección CITAAC. Dra. en Bioquímica, Profesora Consulta, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Eugenia Parolo: Dra. en Química. Profesora adjunta, Secretaria de Posgrado de Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. María Martha Quintana: Dra. en Biología. Docente de Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue.

Mg. Mercedes Indaco: Magister en Tecnología de los Alimentos, Profesional Adjunta CONICET.

Dra. Natalia Guiñazú: Dra. en Ciencias Químicas, Investigadora Independiente CONICET, Profesora Asociada, Facultad de Ciencias del Ambiente y la Salud, Universidad Nacional del Comahue.

Mg. Berta Vera: Mg. en Ciencias Químicas, Profesora Adjunta Regular, Secretaria de Investigación y Vinculación Tecnológica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Soledad Jaureguiberry: Dra. en Ciencias Exactas, Investigadora Asistente CONICET, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Ana Cecilia Mestre: Dra. de la Universidad de Buenos Aires, área Ciencias Biológicas. Investigadora Postdoctoral CITAAC.

Dra. Cecilia Inés Lascano: Dra. en Biología, Investigadora Asistente CONICET, Docente de Química Biológica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue.

Dra. Flavia Bieczynski: Dra. en Biología, Investigadora Asistente CONICET.

Dra. Laura Beatriz Parra Morales: Dra. en Biología, Profesora adjunta, Facultad de Ciencias del Ambiente y de la Salud, Universidad Nacional del Comahue.

Equipo del Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”:

Dra. Melina Álvarez: Dra. en Biología y profesora universitaria. Responsable del Proyecto ARG/17/010.

Vet. Hernán Agostini: Veterinario y docente universitario. Coordinador II del Proyecto ARG/17/010.

Equipo técnico de la Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos:

Lic. Agustín Harte: Lic. en Ciencias Biológicas, Coordinador Técnico de la Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos.

REVISIÓN GENERAL Y EDICIÓN

Dr. Andrés Venturino: Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC)

Dra. Ana María Pechen: Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología del Comahue (CITAAC)

Dra. Melina Álvarez: Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”

Vet. Hernán Agostini: Proyecto PNUD ARG/17/010 sobre el “Fortalecimiento de las capacidades nacionales para el manejo de productos químicos y desechos”

Lic. Agustín Harte: Dirección Nacional de Sustancias y Productos Químicos (DNSyPQ) del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

ÍNDICE

	Página
1 INTRODUCCIÓN	11
2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y DINÁMICA AMBIENTAL DEL CLORPIRIFOS	14
2.1 Conclusiones.....	24
2.2 Referencias.....	26
3 PRESENCIA DE CLORPIRIFOS EN ALIMENTOS	29
3.1 Introducción al problema en general.....	29
3.2 Niveles de clorpirifos hallados en alimentos en Argentina y otros países.....	30
3.3 Límites de residuos máximos de clorpirifos en alimentos.....	34
3.4 Conclusiones.....	36
3.5 Referencias.....	38
3.6 Webgrafía consultada por LMR.....	40
4 IMPACTOS EN SALUD HUMANA	41
4.1 Exposición humana a clorpirifos.....	41
4.2 Vías de exposición de los seres humanos a los plaguicidas.....	43
4.2.1 Exposición dérmica.....	44
4.2.2 Exposición respiratoria.....	47
4.2.3 Exposición oral.....	52
4.3 Proximidad a los sitios de aplicación.....	54
4.4 Subpoblaciones vulnerables.....	58
4.5 Toxicidad aguda.....	61
4.5.1 Exposición aguda.....	61
4.5.2 Exposición ocupacional.....	65
4.6 Toxicidad crónica.....	68
4.6.1 Disrupción endócrina.....	68
4.6.2 Neurotoxicidad.....	70
4.6.2.1 Estudios de efectos neurodegenerativos en modelos animales..	76
4.6.3 Relación del clorpirifos con la aparición de cáncer.....	78
4.6.3.1 Cáncer de mama.....	81
4.6.3.2 Cáncer de próstata y colorrectal.....	82
4.6.3.3 Cáncer de pulmón.....	83
4.6.3.4 Linfoma de Hodgkin.....	84
4.7 Inmunotoxicidad.....	84
4.8 Genotoxicidad.....	86
4.9 Conclusiones.....	89
4.10 Referencias.....	90
5 IMPACTOS EN LA BIOTA ACUÁTICA	106
5.1 Peces.....	107
5.1.1 Efectos tóxicos agudos: Concentración Letal 50 (CL50).....	108
5.1.2 Efectos tóxicos subletales.....	108
5.1.2.1 Neurotoxicidad.....	109
5.1.2.2 Efectos a nivel reproductivo.....	110
5.1.2.3 Alteraciones histopatológicas.....	111
5.1.2.4 Alteraciones bioquímicas, estrés oxidativo y genotoxicidad.....	112
5.1.3 Factores que influyen en la toxicidad de clorpirifos.....	114
5.1.3.1 Salinidad.....	114
5.1.3.2 Temperatura.....	115
5.1.3.3 Etapa de desarrollo y tiempo de exposición.....	116



5.1.4 Bioacumulación.....	116
5.1.5 Situación en Argentina.....	117
5.1.6 Conclusiones.....	121
5.2 Anfibios.....	123
5.2.1 Situación de los anfibios en la República Argentina.....	124
5.2.1.1 Estudios in situ y ex situ.....	124
5.2.1.2 Estudios en condiciones controladas de laboratorio.....	128
5.2.2 Situación a nivel mundial.....	133
5.2.2.1 Estudios sobre el organismo modelo <i>Xenopus laevis</i>	133
5.2.2.2 Estudios sobre anfibios anuros nativos.....	135
5.2.3 Consideraciones finales.....	144
5.3 Macroinvertebrados acuáticos.....	146
5.3.1 Efectos de clorpirifos a nivel de especie.....	146
5.3.2 Estudios a nivel de comunidad béntica.....	148
5.3.3 Efectos de clorpirifos en comunidades de macroinvertebrados.....	149
5.4 Evaluaciones de Riesgo Ambiental para organismos acuáticos.....	152
5.5 Conclusiones.....	163
5.6 Referencias Bibliográficas.....	165
6 IMPACTOS EN LA FAUNA TERRESTRE	177
6.1 Efectos sobre Vida Salvaje.....	177
6.1.1 Aves.....	177
6.1.2 Mamíferos.....	179
6.1.3 Reptiles.....	184
6.1.4 Invertebrados terrestres.....	185
6.1.5 Insectos benéficos.....	186
6.1.5.1 Impacto de clorpirifos en las abejas melíferas.....	188
6.1.5.2 Efectos adversos subletales de plaguicidas en abejas y otros insectos benéficos...	190
6.1.6 Evaluaciones de riesgo e impacto sobre ecosistemas terrestre.....	194
6.2 Efectos sobre animales de granja y domésticos.....	201
6.3 Conclusiones.....	203
6.4 Referencias.....	205
7 ASPECTOS LEGALES DEL USO DE CLORPIRIFOS	213
7.1 Usos de clorpirifos.....	213
7.2 Legislación Nacional e Internacional.....	214
7.3 Alternativas propuestas para reemplazo de clorpirifos a nivel nacional y mundial.....	217
7.4 Conclusiones.....	225
7.5 Referencias.....	226
8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	228
8.1 Recomendaciones.....	229
9. CONSIDERACIONES FINALES	230

6. IMPACTOS EN LA FAUNA TERRESTRE

Andrés Venturino y Laura Beatriz Parra Morales

6.1 Efectos sobre Vida Salvaje

Considerando las características fisicoquímicas del clorpirifos, como su logKow estimado entre 3,31 o 4,7 hasta 5,27 dependiendo de las fuentes de información (CCME, 2008; Watts, 2012), puede considerarse que el mismo posee un potencial de bioacumulación importante. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que existe una posibilidad real de intoxicación en especies de aves y mamíferos a través de la cadena trófica, como vía de entrada. Los factores de bioconcentración en peces, citados en la bibliografía, van desde valores relativamente bajos de 2,67 hasta otros valores altos de 6000 según el estudio (Watts, 2012). Se ha reportado también una bioacumulación con factores de 2 a 3 dígitos en bivalvos, caracoles y anfípodos, al igual que en plantas acuáticas. Por lo tanto, los predadores ictívoros están potencialmente expuestos a clorpirifos en aquellos ambientes donde la deriva aérea produce contaminación del hábitat acuático. Otra fuente de intoxicación derivada de la bioacumulación es la que están expuestos los animales carroñeros.

Otra vía de exposición de la fauna salvaje a clorpirifos es la que se produce en forma directa a través de las aplicaciones aéreas que tienen lugar en distintas regiones del país, y en menor medida a través del uso de maquinaria agrícola.

De acuerdo a los cocientes de riesgo calculados, se indica que clorpirifos presenta riesgos en pequeños mamíferos y aves, los cuales se incrementan por aplicaciones múltiples o exposiciones prolongadas (US EPA, 2006). Para animales terrestres, La US EPA sugiere Límites de Riesgo para los índices calculados a partir de los niveles ambientales esperados de clorpirifos y los respectivos parámetros de ecotoxicidad (Dosis Letal 50 aguda o Dosis Efectiva 50 crónica, Dosis de Efecto no Observado), que van desde valores de Cocientes de Riesgo mayores a 0,1 para especies en peligro, 0,2 para uso restringido, 0,5 para toxicidad aguda y 1,0 para efectos crónicos (Tabla 6.1). Estudios de hace un par de décadas en USA determinaron que los cocientes de riesgo eran mayores a 1,0 para la mayoría de los mamíferos pequeños y aves (US EPA, 2006).

6.1.1 Aves

El impacto a campo de clorpirifos sobre aves ha sido estudiado en algunos casos en Argentina, refiriendo no solo eventos accidentales sino también por su uso no autorizado para control de especies consideradas como plagas por los agricultores. Ese es el caso del tordo charlatán (*Dolichonyx oryzivorus*), especie migratoria que habita pastizales, bañados y arrozceras del Noreste de Argentina; ya desde 1966 se vino registrando una disminución del 3,1% anual de su población. Aunque es una especie considerada en riesgo en el hemisferio norte, en algunas provincias de nuestro país se la considera plaga para los arrozales, por lo que en algunas zonas se la ataca mediante aplicaciones aéreas de clorpirifos, entre otros agroquímicos, causando mortandades junto a más de 20 especies, entre ellas el varillero Congo (*Chrysomus ruficapillus*), el tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) y varias especies de patos (López-Lanús et al., 2007).

Tabla 6.1 Valores Límite sugeridos para los Cocientes de Riesgo en animales terrestres

Tipo de Riesgo	Cociente de Riesgo	Límite (valor máximo)
Riesgo agudo para especie en peligro de extinción	CAE / DL50, DL50 por m ² o ingesta diaria	0,1
Riesgo agudo para uso restringido, o especie sensible a clorpirifos	CAE / DL50, DL50 por m ² o ingesta diaria	0,2
Riesgo agudo	CAE / DL50, DL50 por m ² o ingesta diaria	0,5
Riesgo crónico	CAE / NOEC o DE crónica	1,0

CAE: concentración ambiental esperada; DL50: dosis letal para 50% de la población; NOEC: concentración de efecto no observado; DE crónica: dosis efectiva para efectos crónicos. Modificado de US EPA, 2006.

Es un ejemplo sumamente interesante de la exposición de aves a aplicaciones a campo de clorpirifos, el reporte reciente de niveles de este insecticida en plumas de especies marinas costeras de Argentina, el albatros de ceja negra (*Thalassarche melanophris*) y el petrel damero (*Daption capense*), en niveles promedio de 49,56 y 84,88 ng/g respectivamente, 10 veces o más elevados que cualquiera de los otros contaminantes detectados (Quadri Adrogué et al., 2019).

Un reporte canadiense reúne información sobre la toxicidad oral de clorpirifos en 12 especies de aves, citando un rango que va desde 2 a 671 mg/kg (Grabuski et al., 2004). Sin embargo, refieren pocos o nulos efectos a nivel crónico, sobre todo en trabajos más antiguos de 1993 para atrás.

Estudios de laboratorio y de administración controlada de clorpirifos permiten evaluar los riesgos y daños potenciales en aves. La administración crónica de clorpirifos en el alimento (80 mg/kg) durante 18 semanas a patos reales causó una reducción del peso corporal, número de oviposiciones con menor grosor de la cáscara y menor número de crías exitosas, además de provocar alteraciones neurotóxicas a nivel de la Acetilcolinesterasa cerebral (Gile y Meyers, 1986). En pollas adultas, perdices chukar y codornices del Norte, la administración de 100 mg/kg de clorpirifos en el alimento durante 16 semanas causó una disminución significativa de la fertilidad y la eclosión de los huevos, encontrándose concentraciones de hasta 0,126 mg/kg del insecticida en la yema (Schom et al., 1973). La exposición a concentraciones de clorpirifos equivalentes a aplicaciones a campo de 840 g/ha, de huevos de codorniz (*Coturnix japonica*), causó el aumento significativo del tiempo necesario de incubación para la eclosión, presentando los polluelos deformidades en pies y patas, escoliosis y deformaciones del pico (Martin, 1990). Una revisión del año 1995 refiere efectos agudos del clorpirifos en la dieta que van desde 180 mg/kg diario (5 días) en el pato real hasta 1g/kg en el pato Pekín (Barron y Woodburn, 1995). La administración oral de clorpirifos a codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) como especie modelo, en forma sub-crónica (10 mg/kg alimento durante 4 semanas), causa una disminución de la capacidad metabólica y aeróbica (Narváez et al., 2016). Un estudio posterior encuentra

efectos genotóxicos de clorpirifos en esta misma especie, con un aumento de 4 veces en el número de micronúcleos y del doble de daño en ADN por ensayo cometa, a partir de los 15 días por la administración de 12 mg/kg/d, mientras que a 45 días ya se observa genotoxicidad a tan solo 3 mg/kg/d (Suliman et al., 2020). La administración de dosis subletales de clorpirifos en semillas (10% y 25% de DL50, 2,9 y 7,4 mg/kg peso corporal respectivamente) durante 3 días, afectó fuertemente la actividad migratoria y la capacidad de orientación de chingolos corona blanca (*Zonotrichia leucophrys*), efecto que se mantuvo hasta 14 días después de la intoxicación (Eng et al., 2017).

Otros estudios se basan en modelos de administración oral única, inyección o inmersión de huevos. La administración única de 2 mg de clorpirifos/kg peso causó una notoria toxicidad aguda en polluelos del tordo de alas rojas (*Agelaius phoeniceus*) de casi el 50% en 1 día y llegando al 72% de mortalidad en 1 semana, siendo menor su efecto en polluelos de estornino europeo (*Sturnus vulgaris*) que llegó a un 20% de mortalidad en 2 semanas (Meyers et al., 1992). Los polluelos sobrevivientes de tordo presentaron signos de letargia, pérdida de pedido de alimentación y falta de respuesta a estímulos. En el reporte de Barron y Woodburn de 1995, se citan efectos agudos de la administración oral de clorpirifos que se extienden desde 8,4 mg/kg de peso corporal en el faisán común, hasta 157 mg/kg de peso en la tórtola común, siendo para la mayoría de las especies del orden de la decena de mg/kg. La administración de 3 mg/kg de clorpirifos a palomas mensajeras es capaz de afectar su actividad motora aumentando los tiempos de vuelo en un 25%, que se correlaciona con la ventana temporal de inhibición de la colinesterasa plasmática (Moye y Pritsos, 2010). En la tabla 6.2 se reúnen valores de concentración de clorpirifos que caracterizan efectos tóxicos agudos y crónicos en aves.

6.1.2 Mamíferos

Son escasos los trabajos que describen efectos del clorpirifos sobre mamíferos, tanto a nivel de especies salvajes como también sobre especies domésticas. La vía principal de llegada de clorpirifos sobre las especies salvajes es a través del contacto directo en las aplicaciones (por ejemplo, en roedores y otros taxones que habitan en cuevas subterráneas en campos), como efectos indirectos a través de la dieta. Un estudio sobre la comunidad de pequeños roedores en zonas agrícolas del sur de la Provincia de Córdoba, comparando producción orgánica vs. producción convencional, encontró una mayor abundancia de especies como *Calomys musculinus* (ratón maicero), *Calomys laucha* (laucha de campo) y *Akodon azarae* (ratón de Azara) en los bordes con mayor vegetación de los campos orgánicos. Además del manejo intencional sobre los bordes de la producción en los sistemas extensivos tradicionales, estas especies podrían verse afectadas por la aplicación a gran escala de herbicidas e insecticidas entre los que se cita al clorpirifos (Coda et al., 2015). Utilizando el análisis de “fluctuación de asimetrías” (pequeñas desviaciones de una simetría bilateral perfecta) como indicador de estrés ambiental, se encontró que especies roedoras de hábitats especializados

como *A. azarae* poseen el doble de fluctuación en producciones convencionales con alto grado de utilización de agroquímicos, incluido clorpirifos, respecto a producciones extensivas orgánicas (Coda et al., 2016). El uso de pesticidas podría estar provocando alteraciones nutricionales al disminuir la disponibilidad de invertebrados, fundamentalmente en las hembras durante la preñez y lactancia, aunque esto no pudo ser analizado en ese estudio.

Tabla 6.2 Valores de parámetros finales de ecotoxicidad de clorpirifos reportados en aves

A. Toxicidad Aguda, dosis orales únicas

Especie	Parámetro	Valor mg/kg peso corporal	Referencia
Tordo ala roja	DL50	2	(Meyers et al., 1992)
Gallina doméstica	neurotoxicidad	2	(Al-Badrany y Mohammad, 2007)
Paloma mensajera	DL50/10; neurotoxicidad	2,9	(Eng et al., 2017)
Estornino	DL50	5	(Schafer, 1972)
Grajo bronceado	DL50	5,62	(Schafer y Brunton, 1979)
Faisán anillado	DL50	8,41	(Tucker y Haegele, 1971)
Loro doméstico	DL50	10	(Schafer, 1972)
Paloma común	DL50	10	(Schafer et al., 1983)
Codorniz japonesa	DL50	13,3	(Schafer et al., 1983)
Pato real	DL50	14,5	(Hudson et al., 1972)
Grulla canadiense	DL50	25	(Tucker y Crabtree, 1970)
Paloma bravía	DL50	26,9	(Tucker y Haegele, 1971)
Codorniz del norte	DL50	32	(Hill y Camardese, 1984)
Pavo común	DL50	32	(Marshall y Roberts, 1978)
Ganso canadiense	DL50	40	(Hudson et al., 1984)
Chuckar	DL50	60,7	(Tucker y Haegele, 1971)
Codorniz californiana	DL50	68,3	(Hudson et al., 1984)
Tórtola común	DL50	157	(Hill y Camardese, 1984)

B. Efectos crónicos, por alimentación o agua.

Especie	Parámetro - Exposición	Valor mg/kg alimento	Referencia
---------	------------------------	-------------------------	------------

Codorniz japonesa	Genotoxicidad – 45 d	3	(Suliman et al., 2020)
Pato real	NOEC desarrollo – 100 d	8	(Meyers y Gile, 1986)
Gallina doméstica	NOEC desarrollo – 84 d	10	(Kenaga, 1974)
codorniz del norte	NOEC desarrollo – 28 d	50	(Kenaga, 1974)
Chucker	Reproducción – 16 sem	100	(Schom et al., 1973)

Se indican los menores valores de concentración de efecto reportados para cada especie.

Estos trabajos orientan hacia posibles efectos de clorpirifos y otros insecticidas y agroquímicos en general. Sin embargo, estos son claramente insuficientes en nuestro país, tanto en número como en la posibilidad de confirmar sospechas fundadas al respecto. Por ejemplo, un trabajo exploratorio en dos especies de perezosos en Costa Rica, habitantes de explotaciones agrícolas, demostró la presencia de clorpirifos en el pelaje, en el orden de 0,2 mg/kg, lo cual representa tanto un riesgo agudo como crónico (Pinnock Branford et al., 2014).

Existen pruebas de que el clorpirifos se bioacumula e impacta a especies salvajes a través de la cadena trófica, específicamente por insectos que reciben al insecticida por aplicaciones a campo. Un estudio realizado en Indiana, USA, revela la presencia de hasta 0,18 µg/g en murciélagos (*Myotis sodalis* y *Myotis septentrionalis*), en murciélagos hallados muertos (hasta 4,2 µg/Kg) y en el guano de murciélagos de 4 cavernas muestreadas (hasta 1,1 µg/Kg de peso fresco) (Eidels et al., 2007). Aún en los casos en que los efectos no fuesen letales, se indica que dosis bajas son capaces de alterar la ecolocalización, coordinación en el vuelo y tiempo de respuesta, lo que puede llevar a daños severos de los animales, lo que en suma daría en parte cuenta de la reducción de sus poblaciones. Efectivamente, un trabajo posterior en murciélagos morenos (*Eptesicus fuscus*) determinó como dosis umbrales para efectos del clorpirifos: 3,7 y 10,1 µg/g para las colinesterasas cerebral y plasmática respectivamente; 6,2 µg/g para impedimento de vuelo; 12,9 µg/g para inmovilización; 7,8 µg/g para temblores; alteraciones en la regulación de la temperatura corporal a 5 µg/g (Eidels et al., 2016).

Una revisión amplia de la ecotoxicidad de clorpirifos da cuenta de la menor sensibilidad de mamíferos salvajes, con dosis orales agudas que varían en un amplio rango de 60 a 2000 mg/kg (Barron y Woodburn, 1995). En cambio, para los efectos crónicos se contaba principalmente con datos de exposición en laboratorio, con valores de NOEC del orden de 1,5 a 100 mg/kg de alimento, tomando como efecto la alteración de colinesterasa cerebral y plasmática (Barron y Woodburn, 1995).

Los estudios de toxicidad en laboratorio han sido desarrollados principalmente sobre especies modelo: ratón, rata, chanchito de guinea, y conejo. Gran cantidad de avances respecto a los efectos subletales del clorpirifos y de los mecanismos de acción subyacentes han sido desarrollados sobre estas

especies, además de modelos celulares en cultivos. Un informe técnico de Canadá reporta valores de toxicidad aguda para estas especies entre 0,1 y 6,7 g/kg de peso corporal para clorpirifos administrado por vía oral o dermal (Grabuski et al., 2004). El clorpirifos administrado en dosis de 25 mg/kg/día durante 1 semana provoca toxicidad severa en ratones gestantes, siendo además fetotóxico, causando menor desarrollo (Deacon et al., 1980). Esta misma dosis causó efectos similares en ratas gestantes, encontrándose también una inhibición significativa de la colinesterasa cerebral (50%) en los fetos (Frag et al., 2003). La administración subcutánea de 25 mg de clorpirifos/kg/día durante 10 días a chanchitas de guinea gestantes causó la inhibición de las colinesterasas sanguíneas en los neonatos (75 a 90%), impidiendo además el aprendizaje espacial en los machos (Mamczarz et al., 2016).

El clorpirifos provoca alteraciones crónicas en diversos modelos animales mamíferos, aunque los reportes más antiguos (hasta alrededor de 1996) indicaban lo contrario (Grabuski et al., 2004). El clorpirifos es una neurotoxina que afecta el desarrollo neuronal, involucrando blancos no colinérgicos (Crompton et al., 2000; Sotomayor et al., 2015). En ratones, se observó una disminución del peso y del diámetro cefálico de neonatos y alteraciones en el esqueleto, luego de la administración de 25 mg/kg/d de clorpirifos a las madres gestantes (Deacon et al., 1980). La administración subcutánea de 7 a 14 mg de clorpirifos/kg/d durante 2 semanas en ratas de 7 días de vida causó una disminución del desarrollo de órganos reproductores en ambos sexos, disminuyendo los niveles de progesterona y estradiol (Ahmad et al., 1993). En un estudio semejante, se demuestra que la administración oral de 7,5 a 17,5 mg de clorpirifos/kg/día durante un mes en ratas macho albinas causa defectos reproductivos crecientes que incluyen una disminución del tamaño testicular, la disminución de la producción espermática, una caída severa de la fertilidad (85%), acompañados de una disminución del 80% de los niveles séricos de testosterona (Joshi et al., 2007).

Estudios realizados en el laboratorio demuestran también en ratas (cepa Wistar) que el clorpirifos genera alteraciones neurológicas, afectando los reflejos auditivos y somatosensoriales a una dosis de 0,1 mg/kg, 10 veces menor que la dosis umbral que modifica los blancos principales de esterasas provocando también genotoxicidad a dosis de 10 mg/kg (Muller et al., 2014). La exposición de ratones a 5 mg de clorpirifos/kg de peso en forma oral demuestra efectos neurotóxicos en el comportamiento, sin que haya alteraciones en la colinesterasa cerebral, pero sí en proteínas involucradas en el desarrollo de sinapsis y mielinización, como la proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina y la sinaptofisina (Lee et al., 2015). La exposición a dosis muy bajas de clorpirifos, de 0,28 mg/kg en una única administración oral a ratones, demuestra ser altamente genotóxica según lo revelan estudios en sangre por el método de Cometa (Rahman et al., 2002).

Dosis de clorpirifos consideradas ambientales (0,01 mg/kg) causan disrupción endócrina sobre los receptores de estrógenos y progesterona en ratas Sprague-Dawley, provocando hiperplasias en ductos y alveolos de la glándula mamaria (Ventura et al., 2016). En la tabla 6.3 se resumen los valores de

concentración de efecto para clorpirifos sobre mamíferos, seleccionando los más sensibles para cada especie y raza respecto a la toxicidad aguda y crónica.

Tabla 6.3 Valores de parámetros finales de ecotoxicidad de clorpirifos reportados en mamíferos. A. Toxicidad Aguda, dosis orales únicas o por ingesta

Especie	Parámetro	Valor	Referencia
Dosis Oral mg/kg peso			
Ratón	genotoxicidad	0,28	(Rahman et al., 2002)
Toro	CI50 colinesterasa	10	(Picco et al., 2008)
Oveja	CI50 colinesterasa	10	(Larsen et al., 2019)
Rata Sprague Dowley	DL10	15	(Zheng et al., 2000)
Rata Sherman	DL50	82	(Gaines, 1969)
Rata Wistar	DL50	135	(McCollister et al., 1974)
Chanchito de guinea	DL50	500	(Smith, 1987)
Cabra doméstica	DL50	500	(Hudson et al., 1984)
Conejo	DL50	504	(Marshall y Roberts, 1978)
Conejo blanco	DL50	1000	(Smith, 1987)
Ingesta – Exposición mg/kg/día			
Rata	CI50 colinesterasa, peso corporal	25 10 días	(Frag et al., 2003)
Ratón	Peso corporal	25 7 días	(Deacon et al., 1980)
Chanchito de Guinea	CI50 colinesterasa	25 10 días	(Mamczarz et al., 2016)
B. Efectos crónicos.			
Especie	Parámetro	Valor	Referencia
Dosis Oral mg/kg peso			
Rata Sprague Dowley	Disrupción endocrina	0,01	(Ventura et al., 2016)
Rata Wistar	Neurotoxicidad	0,1	(Muller et al., 2014)
Murciélago moreno	Neurotoxicidad	3,7	(Eidels et al., 2016)
Ingesta - Exposición mg/kg/d			
Perro doméstico	IC50 colinesterasa	0,5 6 semanas	(Marable et al., 2007)

Se muestran las menores concentraciones de efecto reportadas para cada especie y raza.

6.1.3 Reptiles

Los estudios sobre efectos de plaguicidas en los reptiles son claramente muy escasos e insuficientes a nivel mundial, tanto en condiciones controladas de laboratorio como a campo (Ortiz-Santaliestra et al., 2017). De estos, solo unos pocos estudian específicamente al clorpirifos o en combinación con otros plaguicidas. Trabajos recientes en nuestro país dan cuenta de efectos genotóxicos del clorpirifos sobre el yacaré overo (*Caiman latirostris*); la exposición de yacarés bebés recién eclosionando de los huevos, durante 2 meses a 0,5 µg/L de clorpirifos inicialmente y disminuyendo gradualmente hasta 0,05 µg/L al finalizar la exposición, en mezclas binarias con glifosato o cipermetrina simulando aplicaciones a campo, causó un aumento notorio de 12 veces en la aparición de micronúcleos (López González et al., 2019). Estudios de exposición de huevos fertilizados de esta especie simulando la aplicación a campo de 1,92 a 3,84 kg de clorpirifos/ha, demuestran genotoxicidad por daño en el ADN y aumento de la frecuencia de micronúcleos en sangre de los yacarés nacidos (Odetti et al., 2020). Estudios similares se reportan en el lagarto overo o tegu blanco (*Salvator merianae*), donde la exposición de juveniles a clorpirifos en las concentraciones antes mencionadas junto con glifosato y cipermetrina causa una alteración del sistema inmune, disminuyendo el número de glóbulos blancos que además presentan un mayor número de lóbulos, un menor título de anticuerpos, y un aumento de los niveles de corticosterona plasmática que revela un alto grado de estrés (Mestre et al., 2019). La exposición tópica de huevos a 10 – 1000 µg de clorpirifos/huevo sin embargo no arroja resultados significativos (Mestre et al., 2020).

Se ha demostrado que huevos de la tortuga mordedora (*Chelydra serpentina*) expuestos en suelo contaminado con clorpirifos en concentraciones equivalentes a las de campo, de 1,92 kg/ha (recomendada) y 19,2 kg/ha (10 veces mayor), absorben rápidamente el insecticida y lo bioacumulan en 8 días hasta valores del orden de 0,13 y de 0,75 mg/kg de peso fresco para cada aplicación respectivamente (De Solla y Martin, 2011). Una exposición de huevos de esta especie a 5 kg de clorpirifos/ha en combinación con otros pesticidas hasta 1 semana antes de su eclosión, causó un 15% en promedio de malformaciones (De Solla et al., 2014). Estudios en el crótalo terciopelo (*Bothrops asper*) muestran efectos subletales neurotóxicos por 90 mg de clorpirifos aplicados en adultos, causando una inhibición del 30% de la actividad de colinesterasa plasmática (Arguedas et al., 2018).

6.1.4 Invertebrados terrestres

Las lombrices de tierra son consideradas uno de los mejores bioindicadores de la calidad o contaminación de los suelos. La actividad de colinesterasas es a su vez uno de los biomarcadores establecidos para los efectos de plaguicidas anticolinesterásicos en lombrices de tierra.

La toxicidad aguda de clorpirifos en la lombriz roja (*Eisenia fetida*) está representada por una DL50-96h de 28,6 mg/kg de suelo fresco (Das Gupta et al., 2011). En otro estudio se determinó la DL50 de contacto a 48h, en 37 ng de clorpirifos/cm² (2,33 mg/kg peso fresco), lo que equivale a 3,7 mg/ha, con una inhibición del 91% de la colinesterasa en los individuos sobrevivientes (Rao et al., 2003). Recientemente se demostró la influencia del tipo de suelo sobre la toxicidad aguda, encontrando también daños por estrés oxidativos en la exposición crónica de *Eisenia fetida* desde valores muy bajos de clorpirifos, de 0,01 mg/kg de suelo (Zhu et al., 2020). La lombriz merodeadora nocturna africana (*Eudrilus eugeniae*) es más resistente, mostrando una DL50-48h de 165 ng de clorpirifos/cm², equivalente a 16,5 mg/ha, alcanzando un 50% de inhibición de la colinesterasa con un 5% de dicha concentración, 8.4 ng/cm² (Tiwari et al., 2019). La lombriz tropical (*Perionyx excavatus*) presenta una DL50 de 122 y 100 mg/kg suelo seco para la exposición crónica de 28 días a clorpirifos puro y formulado respectivamente; la Dosis Efectiva-50 (DE-50) para la reproducción fue mucho menor, de 4 y 3 mg/kg, respectivamente (De Silva et al., 2010). La lombriz roja común *Eisenia andrei*, utilizada como organismo modelo, es menos sensible, presentando una DL50 a 28 días de 148 mg de clorpirifos/kg de suelo seco, y una DE50-reproducción de 38 mg/kg, encontrándose que las lombrices bioconcentran 2,5 veces el tóxico (García-Gómez et al., 2019).

En suelos de granjas en Sudáfrica, se encontraron niveles disminuidos en las densidades poblacionales de lombrices de tierra, principalmente *Aporrectodea caliginosa* que se redujo en un 80%, atribuidos a la aplicación de clorpirifos y su presencia hasta 2,71 µg/kg peso seco de suelo y de hasta 10 µg/kg debidos a escorrentía. Evaluando los efectos del clorpirifos en microcosmos terrestre aplicado hasta 8 µg/kg en tres aplicaciones separadas cada 2 semanas, se observa una caída significativa del 40% de la biomasa, la aparición de inactividad (estivación) en hasta un 60% de las lombrices, una inhibición variable y significativa de la actividad de colinesterasas que llegó hasta el 95% en algunos casos (5% de actividad remanente), y una pérdida notoria de la estabilidad de las membranas celulares también del 95% (Reinecke y Reinecke, 2007). Un trabajo más reciente en esta especie encuentra efectos significativos sobre la reducción del peso corporal en un 30% con 10 mg de clorpirifos/kg de suelo en esta especie, a 3 y 31 días de exposición, alcanzando un 97% de inhibición de la colinesterasa y 90% para carboxilesterasas, sin presentar mortandad (Sanchez-Hernandez et al., 2014). La lombriz de tierra común, *Lumbricus terrestris*, con concentraciones de 12 mg/kg peso seco de suelo, 4 veces el orden de las esperadas ambientalmente para clorpirifos, presenta una inhibición de colinesterasas de alrededor del 50% que se mantiene durante los 35 días de exposición y que rápidamente (2 días) pierde su capacidad de reactivación por oximas (Collange et al., 2010).

Otros artrópodos son potencialmente afectados por la aplicación de clorpirifos. Entre los colémbolos, *Folsomia candida* conocido como “cola de resorte” es afectado crónicamente por la exposición vía dieta a clorpirifos (20 mg/kg durante 120 días, en etapa juvenil), con una caída abrupta de la supervivencia y la reproducción a 45 días de exposición (Jager et al., 2007). Un estudio más reciente en esta especie muestra la

toxicidad de clorpirifos aplicado en suelo, con una DL50 a los 28 días de 0,04 mg/kg de suelo seco (Jegade et al., 2017). El efecto de clorpirifos sobre la reproducción se ve afectado por la temperatura, llegando a una DE50 de 0,018 mg/kg a 26 °C (50% del valor a 20 °C), lo cual es un riesgo ambiental severo considerando que la concentración ambiental esperada es de 0,86 mg de clorpirifos/kg de suelo. Un ácaro depredador de larvas de moscas, *Hypoaspis aculeifer*, también es afectado por clorpirifos en forma diferencial por la temperatura, presentando una DL50 a 14 días de 2,41 mg/kg de suelo seco a 28 °C, la mitad del valor a 20 °C, mientras que la EC50 sobre la reproducción cae 4 veces, a un valor de 1,42 mg/kg (Jegade et al., 2017). Esto demuestra la importancia que puede tener el clima sobre la ecotoxicidad de agroquímicos como el clorpirifos.

6.1.5 Insectos benéficos

Los artrópodos beneficiosos, como los polinizadores de cultivos y los enemigos naturales de las plagas y malezas, desempeñan un papel importante en el éxito económico y ecológico de los agroecosistemas. Los insectos benéficos o depredadores son organismos que matan a sus presas al alimentarse de ellas. En general, las hembras depositan sus huevos cerca de las posibles presas. Al eclosionar los huevos, las larvas o ninfas buscan a sus presas para alimentarse. Los insectos benéficos se alimentan de muchos individuos para poder completar su ciclo de vida y en general tienen mayor tamaño que su presa. De acuerdo a sus hábitos alimenticios, los insectos benéficos pueden clasificarse en polívoros, los cuales se alimentan de especies pertenecientes a varias familias y géneros como la crisopa (Chrysopidae). Los oligófagos son aquellos que se alimentan de presas que pertenecen a una familia de varios géneros y especies como las vaquitas o mariquitas (Coccinellidae). Las moscas (Syrphidae) y monófagos son aquellos que se alimentan de especies que pertenecen a un solo género, como *Rodalia cardinales* (Coccinellidae) que es un depredador específico de la cochinilla acanalada de los cítricos (*Icerya purchasi*). Los insectos benéficos, especialmente los parasitoides, son fuertemente afectados por las aplicaciones de plaguicidas, entre ellos clorpirifos, no debiendo considerarse solamente la mortalidad sino también los efectos subletales (Desneux et al., 2007) y sobre la progenie (Delpuech y Meyet, 2003).

Actualmente, desde el programa ProHuerta del INTA y el Ministerio de Desarrollo Social de la Nación se destaca el rol que cumple el control biológico para un manejo sustentable de las huertas. Este tipo de control utiliza insectos benéficos como enemigos naturales de plagas que afectan a los cultivos. El objetivo del programa es identificar aquellos insectos y aprovecharlos al máximo en favor de los cultivos (<https://intainforma.inta.gob.ar/insectos-beneficos-para-el-control-biologico-de-plagas/>). Recientemente, una avispa autóctona, *Goniozus legneri*, presente en Argentina, Chile y Uruguay, es el primer insecto que multiplica el INTA para incursionar en una nueva tendencia global como es el control de plagas mediante insectos benéficos, convirtiéndose en una herramienta sustentable a nivel económico, ambiental y social. En la Región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, se demostró luego de varios años de investigación que

produciendo a gran escala este insecto nativo, enemigo natural de la carpocapsa (*Cydia pomonella*), e introduciéndolo en el monte, se puede controlar la plaga y al mismo tiempo se reduce el uso de insecticidas en un 80%, entre otros beneficios (Garrido et al., 2018).

Los polinizadores e insectos benéficos en general son importantes tanto para los ecosistemas naturales como para los agrícolas (Cutler et al., 2014). Dentro de los polinizadores más estudiados se encuentran las abejas de la miel, *Apis mellifera* (L.) (26%), abejas silvestres (24%), abejorros (22%), avispas (5%), dípteros (12%), coleópteros (7%), lepidópteros (2%) y tisanópteros (2%) (García García et al., 2016). La polinización es un proceso fundamental para el sostenimiento de la viabilidad y la diversidad genética de las plantas con flor, que además mejora la calidad y cantidad de semillas y frutos (Vergara y Badano, 2009; Chautá-Mellizo et al., 2012). Si bien el viento contribuye en la polinización de numerosas especies, 75% de la producción global de frutas, vegetales y semillas depende de la polinización realizada por animales, especialmente abejas (Klein et al., 2007). Se ha reportado que la acción de los insectos que visitan las flores para maximizar la autopolinización parece aumentar la producción de semillas o frutos (Aizen et al., 2008). En numerosos estudios se ha demostrado que la presencia de una diversidad de polinizadores disponibles aumenta considerablemente el rendimiento de producción de frutos en la mayoría de los cultivos (Rader et al., 2013; Mallinger y Gratton, 2015; Blettler et al., 2018). Las abejas melíferas, *Apis mellifera*, son las mayores polinizadoras de especies vegetales silvestres y cultivadas a nivel mundial. La polinización con *A. mellifera* aumenta en un 14% el rendimiento, y cuando los cultivos son visitados por una variedad de polinizadores se pueden observar aumentos de hasta un 41%.

Las abejas son los insectos que visitan las flores con mayor abundancia y frecuencia en los cultivos de soja (Delaplane y Mayer, 2000), y también lo hacen otros himenópteros (Santos et al., 2013; Monasterolo et al., 2015), dípteros y coleópteros (Santos et al., 2013; Fagúndez et al., 2016). En consecuencia, varios estudios han reportado que la soja es un recurso nectarífero importante para la producción de miel de las abejas (Fagúndez et al., 2016). Los resultados indican que la soja es un recurso importante para la nutrición de las abejas además de la producción de miel. En Argentina se ha reportado la importancia y la eficacia de los polinizadores naturales en un cultivo de kiwi (Sáez et al., 2019), encontrándose que la polinización por las abejas causa una producción de frutos más pesados y homogéneos en comparación con la polinización artificial.

6.1.5.1 Impacto de clorpirifos en las abejas melíferas

Muchos de los agroecosistemas donde se aplica clorpirifos tienen poblaciones de abejas silvestres o provenientes de la apicultura comercial; para algunos de los cultivos, como cítricos, almendras o frutas, su disponibilidad es crítica ya que dependen enteramente de su tarea de polinización. En el caso de algodón,

maíz o soja, donde el viento interviene activamente en la tarea, sus flores sirven para el forrajeo de múltiples especies de polinizadores y también para establecer sus nidos (Rhodes, 2002). La abeja melífera, *Apis mellifera*, es un insecto social y por lo tanto los miembros de una colmena se verán afectados de manera directa o indirecta por la contaminación por los plaguicidas. En una colmena, las abejas recolectoras son las primeras en ser afectadas y dependiendo del grado de toxicidad pueden morir en el campo, en el vuelo de vuelta o en la colmena misma. El plaguicida organofosforado clorpirifos se utiliza ampliamente para controlar plagas agrícolas y además provoca efectos tóxicos en insectos benéficos (Fernandes et al., 2016) y se considera altamente tóxico para las abejas (CASAFE, <https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020). Además, se considera ubicuo con una persistencia moderada en el medio ambiente y muy volátil, lo cual permite dispersarse por el aire (Davie-Martin et al., 2013). Así, las principales vías de exposición de las abejas melíferas son por su alimentación y contacto con las flores que fueron rociadas durante la aplicación y que permanecen disponibles para las abejas después de la aplicación. Las vías de exposición secundarias al clorpirifos son el polen y el néctar que las abejas recolectoras traen a la colmena y la carga corporal subletal del clorpirifos que llevan las abejas recolectoras. La DL50 para clorpirifos suministrado a través de una solución de sacarosa ha sido reportado en 103,4 ng/abeja para *Apis mellifera* y en 81,8 ng/abeja para *Apis cerana* (Li et al., 2017).

En nuestro país se ha registrado que las abejas melíferas acumulan residuos de plaguicidas, entre ellos el clorpirifos, y pueden transferirlos a la colmena a través del forrajeo (Calatayud-Vernich et al., 2016; Villalba et al., 2020). Recientemente, se ha estudiado la situación actual de la contaminación del clorpirifos en las matrices como pan de abeja, miel, abejas de la miel y en las colmenas cuyas muestras a analizar provienen de cultivos de soja (Villalba et al., 2020). En este estudio, se registró clorpirifos como segundo plaguicida en mayor proporción (8,88 ng/g) así como también se determinó gran cantidad en el pan de abeja (0,52–5,69 ng/g) y similares valores en el polen, lo que sugiere que este insecticida llega a las flores y puede impactar directamente en las colmenas. Esta investigación tuvo en cuenta diferentes sitios y diferentes tiempos de aplicación del insecticida (pre-aplicación y aplicación), por lo cual el impacto de clorpirifos sobre las diferentes matrices estudiadas estuvo estrechamente relacionado con la aplicación del insecticida en los cultivos. Es importante mencionar que el polen es utilizado por las abejas nodrizas para producir gelatina para alimentar a las larvas, la reina, zánganos y trabajadores mayores, y si el polen está contaminado, estos residuos podrían afectar a los miembros de la colonia, ya que se sabe que el polen influye el metabolismo fisiológico, la inmunidad (Alaux et al., 2010), la tolerancia a virus y patógenos (Rinderer et al., 1974; Watkins de Jong et al., 2019) y la reducción de la sensibilidad a los pesticidas (Wahl y Ulm, 1983).

En el último tiempo, principalmente en América del Norte y Europa, se ha observado un incremento en las pérdidas de colonias de *A. mellifera* y de otros polinizadores silvestres. Si bien aún se desconoce la causa de estas pérdidas inesperadas, la mortalidad se atribuye a varios factores, entre ellos el uso de

plaguicidas (Le Conte et al., 2010; vanEngelsdorp y Meixner, 2010). En Argentina, en la temporada 2015-2016 se reportaron pérdidas de colonias de abejas, registrando un 15,5% sobre 28.204 colonias (Requier et al., 2018). Otro estudio reportó pérdidas de colonias del 30% en nuestro país (Maggi et al., 2016). Entre los factores que explican este impacto negativo en las colonias, los plaguicidas son la principal hipótesis. Los plaguicidas, ya sea solos o en combinación con otros factores (patógenos, mala nutrición, etc.), tienen un efecto deletéreo sobre las abejas y otros polinizadores.

En vista del hecho de que casi el 90% de las plantas con flores requieren polinización para sobrevivir, estos polinizadores juegan un papel clave en el mejoramiento de plantas y la producción de alimentos. La susceptibilidad de las abejas melíferas a muchos insecticidas de uso común en la protección de cultivos generó el intento de utilizarlas como bioindicadores para la determinación de residuos de algunos insecticidas en vegetales, así como para detectar peligros de toxicidad para las abejas melíferas (Mcart et al., 2017). La miel también ha demostrado ser un buen indicador ambiental de contaminación por agroquímicos. Se llevó a cabo un estudio en diferentes provincias de nuestro país que incluyeron Santa Fe, Córdoba, La Rioja, Formosa, Entre Ríos, Corrientes, Buenos Aires, Neuquén, y Río Negro, con el objetivo de determinar el estado de contaminación por plaguicidas de *Apis mellifera* en colonias ubicadas en las regiones agroindustriales de Argentina (Medici et al., 2020). El 88% del total de muestras presentó residuos de 16 plaguicidas diferentes, entre ellos clorpirifos. Endosulfán y cipermetrina fueron los plaguicidas más aplicados en las áreas agroindustriales de Argentina, siendo altamente preocupante la presencia de endosulfán en muestras de miel recogidas en el período 2012-2013, ya que en el momento de la cosecha el uso de este insecticida se encontraba prohibido en Argentina (Resolución 511 / 2011 de SENASA). Por otro lado, se reportó el hallazgo de residuos de plaguicidas organofosforados como clorpirifos (12,3 µg/kg) en la provincia de Buenos Aires, lo cual puede tener consecuencias graves e incluso letales en las abejas, ya que los mecanismos de detoxificación mediados por el citocromo P450 estarían disminuidos (Medici et al., 2020). Estos parámetros podrían ser utilizados para identificar las provincias con mayor riesgo de contaminación por plaguicidas en las colmenas lo cual ocasiona un impacto deletéreo y efectos sinérgicos con el acaricida utilizado en la apicultura (Maggi et al., 2016).

Se afirma que muchos de estos plaguicidas neurotóxicos provocan reducciones agudas y subletales en la aptitud de las abejas melíferas, si bien otros autores indican que los efectos de estos tóxicos en combinaciones y su asociación directa con el trastorno del colapso de las colonias y/o la disminución de la salud de las abejas aún no se han determinado (Mullin et al., 2010). Se ha estudiado la toxicidad oral crónica y la toxicidad mixta de plaguicidas comunes como los fungicidas fluvalinato, cumafós, clorotalonil y el insecticida clorpirifos en las colmenas de las abejas melíferas. Los resultados sugieren que la alimentación crónica a los niveles detectados en la colmena de ingredientes activos de plaguicidas, tienen impactos

estadísticamente significativos en la supervivencia de las larvas de abejas melíferas causando un aumento significativo en la mortalidad de las larvas a los 4 días de alimentarlas (Zhu et al., 2014).

En otro estudio, se midieron las concentraciones de 14 insecticidas organofosforados en *Apis mellifera* y matrices de colmena (miel y pan de abeja). Diazinón dimetoato y clorpirifos-oxón fueron los únicos organofosforados detectados en la miel con concentraciones medias de 0,3; 1,5 y 0,2 ng/g de masa húmeda, respectivamente. Fenamifos, clorpirifos y clorpirifos metil fueron los organofosforados detectados en el pan de abeja, con concentraciones medias de 0,4; 2,7 y 15,8 ng/g respectivamente, mientras que el malatión y el diclorvos fueron los únicos insecticidas detectados en abejas con concentraciones medias de 1,4; 3,7 y 889,2 ng/g respectivamente. (Al Naggar et al., 2015).

Un estudio en España determinó la presencia de clorpirifos en cera de panales de abeja en cantidades crecientes con la antigüedad de formación, con un valor medio de 23,3 ng/g y un máximo de 260 ng/g, con una frecuencia de detección del 33,3% en la cubierta, y valores en la fundación de 69,7 ng/g (media), 327,2 ng/g (máximo) y frecuencia del 54,5% de las muestras (Calatayud-Vernich et al., 2017). Otros estudios determinan 1 a 24 ng de clorpirifos/g en abeja, 1 a 100 ng/g de polen, 1 a 60 ng/g de cera (Calatayud-Vernich et al., 2018), y por otra parte 2 a 167 ng/g en pan de abeja (Calatayud-Vernich et al., 2019), que se relacionan con muy altos Cocientes de Riesgo. De manera similar, estudios en China revelan importantes concentraciones de clorpirifos en polen que van desde 16 a 326,8 ng/g con una media de 39,4 ng/g (51,3% de frecuencia de casos positivos), y en pan de abeja, con concentraciones de 10,8 a 1052 ng/g y una media de 41,4 ng/g (35,4% de frecuencia de detección) (Tong et al., 2018). En Italia, la presencia de contaminantes en polen se ha relacionado con la salud de las abejas, encontrando clorpirifos en un 30,3% de las muestras, con una media de 10 ng/g y un valor máximo de 179 ng/g, excediendo límites seguros con un máximo Cociente de Riesgo de 718 (recuérdese que el valor límite para efectos agudos es de 0,5) (Tosi et al., 2018). En la Tabla 6.4 se resumen los niveles de clorpirifos hallados en abejas y en distintos productos de colmena.

6.1.5.2 Efectos adversos subletales de plaguicidas en abejas y otros insectos benéficos

El estudio de los efectos de los plaguicidas en artrópodos se fundamentó históricamente en los efectos agudos producidos por altas dosis. Más recientemente se empezó a prestar atención a los efectos subletales. La mayoría de los estudios sobre los efectos subletales de los insecticidas en los insectos se refieren a modificaciones que afectan negativamente la fisiología o el comportamiento: disminución de la fecundidad o la fertilidad, retardo en el desarrollo, reducción de la longevidad, etc. (Desneux et al., 2007). Por otra parte, diversos factores pueden contribuir a que los insectos estén expuestos a dosis de insecticidas inferiores a las deseadas para el control de plagas (Cutler, 2013). Entre estos factores se cuentan la deriva que incluso una leve brisa puede causar en el momento de la aplicación, la volatilización, y la degradación

biótica y abiótica. Entre los efectos subletales también se reportaron efectos estimulatorios ocasionados por bajas dosis de insecticidas. La hormesis ocurre como consecuencia del comportamiento bifásico de algunas sustancias, ya que en bajas concentraciones producen efectos benéficos, mientras que a altas dosis producen efectos perjudiciales (Cutler, 2013). Este fenómeno ha sido señalado como la causa subyacente del resurgimiento de plagas y la aparición de plagas secundarias (Guedes et al., 2009).

Tabla 6.4 Niveles de clorpirifos en matrices relacionadas a abejas

Matriz	Lugar	Clorpirifos detectado (ng/g)	Referencia
Abeja de la miel	Bs As, Argentina	8,88	(Villalba et al., 2020)
	Nueva Zelanda	0,30-2,38	(Urlacher et al., 2016)
	USA	30-40	(Mullin et al., 2010)
	Polonia	3,5	(Kiljanek et al., 2017)
	Egipto	31	(Al Naggar et al., 2015)
	Francia	1,72-180,20	(Lambert et al., 2013)
	España	1-24	(Calatayud-Vernich et al., 2018)
Pan de abeja	Bs As, Argentina	0,52-5,69	(Villalba et al., 2020)
	China	41,4 (10,8-1052)	(Tong et al., 2018)
	USA	4,27	(Fulton et al., 2019)
	España	2-167	(Calatayud-Vernich et al., 2019)
Miel	Bs As, Argentina	0,76-3,89 12,3	(Villalba et al., 2020) (Medici et al., 2020)
	Italia	9,4	(Panseri et al., 2014)
	Grecia	0,70-0,89	(Balayiannis y Balayiannis, 2008)
	Uruguay	30-80	(Pareja et al., 2011)
Cera	España	23,3 - 327,2	(Calatayud-Vernich et al., 2017)
	España	1-60	(Calatayud-Vernich et al., 2018)
Polen	España	1-100	(Calatayud-Vernich et al., 2018)
	China	16-326,8	(Tong et al., 2018)
	Italia	10 - 179	(Tosi et al., 2018)

Los estudios sobre efectos subletales de plaguicidas en la bioquímica de insectos se han llevado a cabo principalmente en abejas y enemigos naturales (Desneux et al., 2007). Un resumen de los diferentes tipos de estudios en relación a efectos subletales en insectos se muestra en la Figura 6.1.



Figura 6.1 Efectos subletales de los plaguicidas en los insectos

Adaptado de Desneux et al. (2007).

Un estudio realizado en tres especies de insectos benéficos, *Cycloneda sanguinea*, *Orius insidiosus* y *Chauliognathus flavipes*, en el cual se investigaron tanto los efectos letales como los subletales, incluyó la alimentación después del contacto con insecticidas, la repelencia y la reproducción mediante bioensayos en el laboratorio (Fernandes et al., 2016). Con respecto al ensayo de toxicidad letal, clorpirifos fue uno de los más tóxicos, presentando LC50 para estas 3 especies de 0,14; 0,20 y 0,36 mg/cm², respectivamente. Con respecto a los efectos subletales, el clorpirifos afectó negativamente el comportamiento alimentario y reproductivo. Generalmente, las dosis de los insecticidas pueden reducir la eficiencia de los depredadores (Roger et al., 1995), alterar las defensas de las presas y reducir la probabilidad de encuentro reduciendo la movilidad de depredadores y presa (Jackson y Ford, 1973). Así, el clorpirifos se considera altamente tóxico también para los enemigos naturales (Bacci et al., 2009; Cordeiro et al., 2010).

Otro estudio realizado sobre el aprendizaje olfativo y la memoria como efectos subletales de clorpirifos (50% de la DL50) en dos especies de abejas, *Apis cerana* y *Apis mellifera*, demostró una disminución significativa en las habilidades de aprendizaje olfativo y la retención de memoria de 2 horas, luego de aplicar 51,7 y 40,9 ng/abeja respectivamente (Li et al., 2017).

Un estudio realizado en Nueva Zelanda en abejas melíferas comparó dosis de clorpirifos por ingesta que causaron efectos subletales en el rendimiento del aprendizaje en condiciones de laboratorio. Así, se observó que el clorpirifos tiene un profundo efecto subletal en la especificidad del apetito mediado por el

olfato y la memoria en las abejas de la miel, a partir de dosis de 5 pg/abeja (Urlacher et al., 2016). Esto podría tener impactos negativos en la búsqueda de alimento y la polinización por las abejas melíferas al afectar la transferencia de aromas de los alimentos durante la trofalaxis y la danza de la abeja, ya que las abejas melíferas dependen de la memoria olfativa para registrar a las flores (Reinhard y Srinivasan, 2009). Del mismo modo, en otro estudio sobre toxicidad crónica del clorpirifos, se observó una disminución en la supervivencia hasta la edad adulta de las larvas alimentadas con dietas que contenían 0,8 mg de clorpirifos/L (Dai et al., 2019). En función de los antecedentes sobre efectos perjudiciales en abejas, Estados Unidos de Norteamérica tomó la decisión de no permitir la aplicación de clorpirifos cuando se observa el forrajeo de abejas en el campo, debiendo describir claramente las etiquetas del producto las restricciones de uso y las instrucciones para minimizar la deriva con el objeto de reducir los efectos deletéreos en colonias de abejas cercanas al punto de aplicación (Solomon et al., 2014).

Un estudio publicado recientemente en un afidófago depredador, *Harmonia axyridis*, un importante controlador del áfido *Aphis glycines* en soja, determina una alta toxicidad de clorpirifos en larvas del tercer estadio con una DL50 de 15,9 ng/larva (Rasheed et al., 2020). En dosis subletales equivalentes a la LC10 (4.62 ng/larva), el clorpirifos reduce significativamente el período de desarrollo y disminuye el potencial de alimentación, la fecundidad de las hembras y la longevidad adulta. En la Tabla 6.5 se resume la información sobre parámetros de toxicidad aguda y efectos subletales de clorpirifos para diferentes insectos benéficos.

Tabla 6.5 Toxicidad aguda y efectos subletales de clorpirifos sobre insectos benéficos

Especie	Efecto	Concentración Efectiva	Referencia
<i>Apis mellifera</i>	DL50	103,4 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	Inhibición memoria y aprendizaje olfativo	51,7 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	CL50	11,8 mg/l	(Yang et al., 2019)
	Pérdida apetito olfatorio	5 pg/abeja	(Urlacher et al., 2016)
	Sobrevida larval	0,8 mg/l	(Dai et al., 2019)
<i>Apis cerana</i>	DL50	81,8 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	Inhibición memoria y aprendizaje olfativo	40,9 ng/abeja	(Li et al., 2017)
	CL50	29,6 mg/l	(Yang et al., 2019)
<i>Cycloneda sanguinea</i>	CL50	0,14 mg/cm ²	(Fernandes et al., 2016)
<i>Orius insidiosus</i>	CL50	0,20 mg/cm ²	(Fernandes et al., 2016)

<i>Chauliognathus flavipes</i> CL50		0,36 mg/cm ²	(Fernandes et al., 2016)
<i>Harmonia axyridis</i>	DL50	15,9 ng/larva	(Rasheed et al., 2020)
	Desarrollo, alimentación	4,92 ng/larva	(Rasheed et al., 2020)
	fecundidad		

En conclusión, la muy alta toxicidad de clorpirifos hacia los insectos benéficos polinizadores, otros artrópodos del suelo e invertebrados benéficos en general, de la cual solo pueden evitarse en forma parcial los efectos en aquellos que poseen posibilidad de evitar las zonas de aplicación, hace que los costos ambientales en estos taxones sean en principio inaceptables. Las recomendaciones de aplicación para evitar efectos en abejas melíferas son insuficientes, ya que no alcanzan a otros insectos o invertebrados. No se posee información suficiente en Argentina para evaluar la capacidad de recuperación a campo de las poblaciones afectadas, que permita reconsiderar los riesgos ecotoxicológicos en invertebrados terrestres.

6.1.6 Evaluaciones de riesgo e impacto sobre ecosistemas terrestres

Ya en 1988 un reporte realizado por la U.S. Wildlife Services recomendaba limitar las aplicaciones de clorpirifos realizadas sobre humedales, pastizales y otros terrenos para controlar mosquitos, porque las dosis recomendadas de 0,028 a 0,056 kg/ha resultaban perjudiciales para la biota, incluyendo efectos subletales en plantas acuáticas, zooplancton, insectos, rotíferas, crustáceos, peces y también en invertebrados terrestres, aunque no se observaron efectos en mamíferos y aves excepto el pato real (Odenkirchen y Eisler, 1988). En el reporte se citan efectos de neurotoxicidad por intoxicación, y se refiere la acumulación en plumas de aves de 0,16 mg/kg una semana después de la exposición en suelos contaminados con 4,5-9,0 kg de clorpirifos/ha. En Barron y Woodburn, (1995) se referencia ausencia de efectos sobre faisanes y patos en lagunas luego de la aplicación aérea de 0,1 kg/ha, mientras que tan sólo 12 g/ha aplicados quincenalmente durante 2 meses provocaron mortalidad sobre el pato real. Los efectos indirectos a través de la dieta de artrópodos pudieron observarse tras aplicaciones de 0,5-1 kg/ha de clorpirifos, que causaron la inhibición de acetilcolinesterasa cerebral en alondras de cuernos (*Eremophila alpestris*) (McEwen et al., 1986). También se encuentran referencias a una reducción de la densidad de aves migratorias en la Savana africana por la reducción de la dieta de saltamontes luego de aplicaciones entre 0,3 a 0,4 kg de clorpirifos/ha, al igual que una reducción en el anidamiento y cría del bufalero de pico rojo (*Bubalornis albirostris*) (Wim C Mullie y Keith, 1993a; Wim C. Mullie y Keith, 1993b). En Canadá también se reportó una disminución en la cantidad de anidamiento en el mirlo americano (*Turdus migratorius*) debido a aplicaciones en campos adyacentes recibiendo hasta 2,3 kg de clorpirifos/ha (Decarie et al., 1993).

En 2001, una evaluación de riesgo ecotoxicológico sobre mamíferos y aves en ecosistemas agrícolas

relacionados al cultivo de maíz estableció que no había evidencia científica que soportara efectos de mortandad extensiva en vida silvestre a causa del uso de clorpirifos (Solomon et al., 2001). Sin embargo, la aplicación de una metodología multicriterio para evaluación de riesgos de la vida salvaje establece que existe una alta vulnerabilidad hacia clorpirifos para las especies que prefieren hábitats de suelos (De Lange et al., 2009). En una evaluación de riesgo en aves publicada en 2014, se establece que la vía principal de exposición a campo de clorpirifos es a través de la alimentación y el agua de bebida (Moore et al., 2014); el estudio se enfoca en aves que se alimentan en campos agrícolas, estableciendo diferentes escenarios de acuerdo al cultivo, aplicación recomendada y fechas. Con valores que alcanzan hasta 6,3 kg de clorpirifos/ha (citrus) y un máximo de 4 aplicaciones por estación (alfalfa), el trabajo modela riesgos bajos (3%), medios (26%) y altos (9%) para distintas aves, y basado en las curvas dosis-respuesta indica que estos riesgos serán bajos en un 21%, medios en un 36% y altos en un 7% de los casos (Moore et al., 2014). Para los riesgos crónicos, estiman que varias especies se encontrarían expuestas a valores mayores a su NOEL en un 20% de probabilidades (Moore et al., 2014). En otra aproximación holística para evaluar riesgos crónicos de clorpirifos sobre aves en Europa, se combinó la información colectada en varios años sobre las poblaciones, la presencia de artrópodos en el tiempo y las características de los hábitats, con información toxicológica en diferentes niveles: laboratorio, a campo, incidentes y modelado (Dittrich y Giessing, 2019). Las tasas de aplicación variaron entre 0,48 a 2,4 kg/ha de 1 a 2 aplicaciones anuales, se determinaron 11-12 especies con valores de predominancia mayor al 2% entre las totales capturadas (20 entre los países participantes), sobre las que se aplicó el modelo de evaluación de riesgo; pese a las observaciones de reducción en el número de individuos coincidentes con las temporadas de aplicación, se observa también una recuperación ya que ninguna especie tuvo una declinación en la abundancia a largo plazo (Dittrich y Giessing, 2019).

Una revisión sobre los eventos de mortalidad en aves en USA entre 1980 y 2000 identifica 335 casos de mortalidad atribuibles a exposición a insecticidas anticolinesterásicos, entre los cuales hay 3 casos de envenenamiento confirmados por clorpirifos con una mortalidad combinada mínima hallada de 43 aves, 2 casos combinados de clorpirifos y diazinon (al menos 22 muertes), y un caso por clorpirifos y fonofos (al menos 65 muertes) (Fleischli et al., 2004). Un trabajo comparativo a campo en Israel da cuenta de intoxicaciones mortales de perdices chuckar en las que se determinó clorpirifos y una inhibición profunda de la acetilcolinesterasa cerebral de un 93% en promedio (Shimshoni et al., 2012).

El riesgo de intoxicación a partir de la alimentación fue evaluado en un estudio donde se realizaron aplicaciones de 1,1 kg de clorpirifos/ha en campos de alfalfa y 2,3 kg/ha en plantaciones de cítricos en USA, evaluando los niveles del tóxico en grillos (*Acheta domestica* L), larvas de escarabajo de tierra (*Tenebrio molitor* L), lombrices de tierra (*Lumbricus terrestris* L), espigas de trigo, e insectos voladores y de tierra naturales de los sitios de aplicación. Los valores medios máximos en cada cultivo entre las 2 horas y los 10 días de las aplicaciones fueron (alfalfa y citrus respectivamente): en grillo 11,41-7,51 mg/kg; en larvas de

tenebriónido 8,48-9,38 mg/kg; en lombriz 1,48-0,28 mg/kg; en semilla 0,30-0,17 mg/kg; en insectos voladores ocasionales 0,13-0,29 mg/kg; en insectos terrestres del lugar 2,35-2,07 mg/kg (Brewer et al., 2003). A partir de estos valores, pueden estimarse riesgos letales y subletales, no solo en aves sino también en pequeños roedores. En un estudio realizado en los Pirineos, se detectaron casi 500 casos de intoxicación entre 2000 y 2013 en carroñeros incluyendo varias especies de buitres, milanos, águilas doradas, buzardos, perros, lobos, osos pardos y zorros, involucrando situaciones accidentales y otras intencionales, detectándose organofosforados y carbamatos en un 36%. En el estudio se evaluaron causas de intoxicación en buitres quebrantahuesos, encontrando que un 76% de muestras de patas de corderos contenían antiparasitarios, de los cuales un 7% correspondió a clorpirifos en el orden de los 10 ng/g (Olea et al. 2012; Mateo et al., 2015).

Por otra parte, un estudio a campo realizado en varios países europeos utilizando radiotelemedría en aves, con 25 aplicaciones de clorpirifos entre 0,5 y 2,4 kg/ha en 13 locaciones, concluyó que las mismas representaban un bajo riesgo en aves en observaciones que duraron hasta 7 días (Wolf et al., 2010).

En estudios realizados sobre paseriformes, incluyendo 18 especies de aves cantoras migratorias en el hemisferio norte, se analizaron los efectos potenciales de organofosforados aplicados en zonas agrícolas, a través de la exposición por vía dermal. De las 18 especies, colectadas en Toronto entre 2007 y 2011, se encontró solamente clorpirifos en los pies de dichas aves, en concentraciones de 0,5 a 52 µg/kg de peso (Alharbi et al., 2016). Las especies afectadas fueron: la curruca de alas azules (*Vermivora cyanoptera*, 1/1 reporte); la parula nortea (*Setophaga americana*, 1/3 reportes); el chipe peregrino (*Leiothlypis peregrina*, 3/8 reportes); el cuelliamarillo común o chipe caranegra (*Geothlypis trichas*, 5/10 casos); el chipe charquero (*Parkesia noveboracensis*, 1/2 reportes); y el chipe azul y negro (*Setophaga caerulescens*, 3/9 reportes), con un total de 18% de las aves positivas para clorpirifos.

Un reporte reciente sobre estudios de campo realizados en Minnesota da cuenta de niveles significativos de clorpirifos durante 2017-2018, no solo en campos aplicados sino también en sitios supuestamente controles, con aplicaciones aéreas en un promedio de 63% de los campos a tasas de 0,53 kg/ha (Goebel y Davros, 2018). Se encontró deriva hasta la máxima distancia analizada de 400 m, con valores de 57 mg/kg en los bordes de aplicación disipándose hasta 0,02 mg/kg, justificando también que en los sitios control pudiera hallarse clorpirifos en dichos niveles de 0,02 mg/kg, proveniente de campos vecinos aplicados. Estos valores dan cuenta de la exposición potencial en forma directa de la biota (aves, mamíferos pequeños, polinizadores, invertebrados en general).

En un trabajo sobre efectos de aplicaciones de clorpirifos sobre las comunidades de anélidos terrestres, se vio que aplicaciones de 4,5 kg/ha (cerca de 2 mg/kg suelo) redujeron hasta un 32% la densidad de lombrices de tierra y un 19% de su biomasa (Potter et al., 1990). Una reducción masiva de artrópodos se

reportó luego de la aplicación de clorpirifos en campos de turf (revisado en (Odenkirchen y Eisler, 1988)). Un estudio a campo en Inglaterra evaluó los efectos de 5 aplicaciones anuales de 0,72 kg de clorpirifos/ha sobre el ecosistema de arañas y colémbolos como parte de la cadena trófica y mejoradora del suelo, encontrando una disminución de la riqueza de especies, diversidad y alteraciones en la distribución (Fountain et al., 2007). La aplicación de clorpirifos produjo un aumento desproporcionado de 500 veces de la especie de colémbolo *Ceratophysella denticulata*, mientras otras especies (*Isotomurus palustris*, *Isotoma anglicana*, *Parisotoma notabilis*, *Isotoma viridis*, *Dicyrtoma ornata* y *Sphaeridia pumilis*) se redujeron entre un 80 a un 100%, desapareciendo totalmente las formas juveniles. Dos especies de arañas, *Tiso vagans* y *Pardosa palustris*, se redujeron notoriamente (50 a 95%). Estos resultados demuestran que el clorpirifos afecta profundamente la estructura comunitaria de invertebrados del suelo. Un resultado semejante, en cuanto a los efectos negativos de clorpirifos, fue reportado sobre la comunidad de colémbolos y macroinvertebrados del suelo; la aplicación de 0,48 kg/ha causó pérdidas de un orden de magnitud en la abundancia de colémbolos y del 20% en la riqueza taxonómica, mientras que entre los macroartrópodos disminuyó la abundancia de algunos coleópteros en más del 60%, también en dípteros, áfidos, homópteros e himenópteros (Frampton y van den Brink, 2007).

Teniendo en cuenta la ausencia casi total de información a nivel de los impactos ecotoxicológicos en organismos terrestres en nuestro país, y la escasa a nivel internacional, realizamos una estimación utilizando Cocientes de Riesgo, ya que no se dispone de información para cargar en modelos probabilísticos como los usados en la EPA entre otros (Moore et al., 2014). Para ello, tomamos como información la toxicidad aguda en los distintos taxones, como la presentada en las tablas 6.2 y 6.3. Para estimar las concentraciones ambientales en las unidades apropiadas de mg/kg, partimos de valores recomendados de aplicación de clorpirifos para los distintos tipos de cultivo según las indicaciones de CASAFE en kg/ha, y que se muestran en la tabla 6.6 (<https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020). También se tuvo en cuenta información sobre niveles de aplicación provistos por diferentes autores en publicaciones indexadas, que se muestra en la Figura 6.2. El rango de aplicaciones recomendadas por CASAFE varía entre 0,08 y 3,0 kg de clorpirifos/ha, mientras que las aplicaciones reportadas van desde 0,012 a 9,0 kg/ha.

Tabla 6.6 Valores recomendados de aplicación de clorpirifos para cultivos en distintas condiciones en Argentina

Cultivo	Aplicaciones de clorpirifos (kg/ha)
Alfalfa, girasol, cereales invierno, hortícola, sorgo, tabaco	0,96; 1,92
Cebolla	1,5
Maíz, papa	1,425
Maíz	1,92
Ajo, cebolla	0,08
Alfalfa	0,175; 0,2
Algodón	0,15; 0,2; 0,3; 0,75; 1,0
Frutales ⁽¹⁾	1,8; 2,4
Cereales, lino	3,0
Cereales invierno	0,45; 0,8
Cítricos ⁽¹⁾	1,5; 1,8
Girasol	0,425
Hortalizas	0,75; 2,0; 3,0
Maíz, sorgo	0,175; 0,5; 0,8; 2,0
Manzano, peral ⁽¹⁾	1,125; 1,5; 1,8
Olivo ⁽¹⁾	1,5; 1,8
Papa	1,0; 3,0
Soja	0,25; 0,45; 0,6; 0,65; 1
Tabaco	2,0; 3,0
Tomate ⁽²⁾	0,8

según CASAFE (<https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020).

⁽¹⁾ Calculado para una tasa de aplicación de 3000 litros/ha a alta presión.

⁽²⁾ Calculado para una tasa de aplicación de 1000 litros/ha.

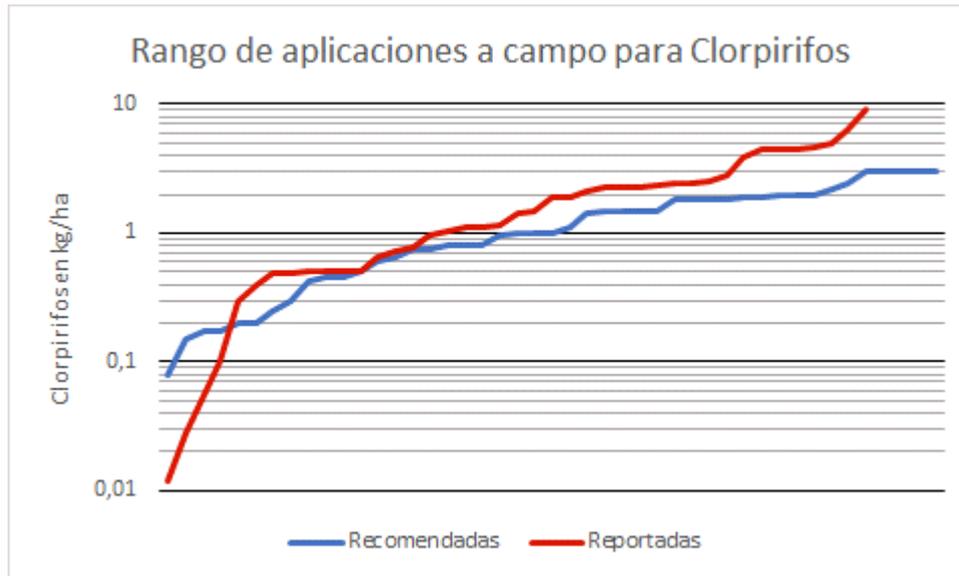


Figura 6.2 Dosis recomendadas y reportadas para clorpirifos a campo

Los valores recomendados corresponden a la información brindada por Casafe (<https://guiaonline.casafe.org/> acceso 25-09-2020), mientras que los valores aplicados son los informados por autores citados a lo largo de este capítulo.

Para la conversión de los valores de aplicación en kg/ha a niveles de exposición en mg de clorpirifos/kg, estimamos los factores para cada cultivo a partir del modelo para organismos terrestres aplicado por la EPA, que se muestran en la tabla 6.7 (US EPA, 2006). A partir de las Concentraciones Ambientales Esperadas tanto en forma aguda y de los indicadores de toxicidad aguda para las especies, calculamos series de Cocientes de Riesgo para cada una de las distintas situaciones, según la fórmula de la Tabla 6.1. Cada serie de Cocientes de Riesgo corresponde a una Concentración Ambiental Esperada y comprende a todas las especies, por lo cual se puede analizar su distribución de sensibilidad a través de su ajuste a modelos probabilísticos de tipo log-Normal o log-Logístico.

En la figura 6.3 se muestran las distribuciones para las aplicaciones de mínima y máxima concentración recomendadas en Argentina, ilustrando los Cocientes de Riesgo Agudo estimados para las respectivas Concentraciones Ambientales Esperadas. El dato más importante de esta figura corresponde a los porcentajes de especies que presentan un valor de Cociente de Riesgo mayor a 0,5 (-0,301 en escala logarítmica), que supera al 65% incluso para el mínimo. Este valor da cuenta del riesgo esperado a campo por las especies terrestres cuando se aplica clorpirifos. Cuando se considera el máximo nivel de clorpirifos recomendado para las aplicaciones, los Cocientes de Riesgo superan el máximo para efectos agudos en el 97% de las especies. Otra información que puede visualizarse en la figura 6.3 es el riesgo para diferentes taxones: los invertebrados e insectos benéficos en particular son los más sensibles entre los organismos terrestres, seguidos por las aves, y finalmente los mamíferos como los menos sensibles.

Tabla 6.7 Concentraciones Ambientales Esperadas para clorpirifos de acuerdo a las aplicaciones a campo

Cultivo	Exposición aguda		Exposición crónica	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Hortalizas	18,32534993	458,1337483	10,67128098	266,7820244
Algodón	25,96245657	173,0830438	9,42365799	62,8243866
Alfalfa	35,48202398	389,2884916	13,32694828	146,2156611
Soja	57,26671853	229,0668741	33,34775305	133,3910122
Girasol	97,35342151	439,8083983	56,69118019	256,1107434
Cereales	103,0800934	687,2006224	60,02595549	400,1730366
Maíz	117,5522339	335,0238666	66,41789195	189,2909921
Tabaco	219,9041992	439,8083983	128,0553717	256,1107434
Frutales	240,770877	513,6445376	254,5104588	542,9556455
Reportados	2,74880249	2061,601867	1,600692146	1200,51911

Valores expresados en mg/kg esperados por 1 kg de clorpirifos aplicado/ha. Se muestran los valores estimados para las tasas de aplicaciones mínimas y máximas recomendadas para cada cultivo o las reportadas. Los valores esperados fueron estimados a partir de los modelos aplicados por US EPA (2006).

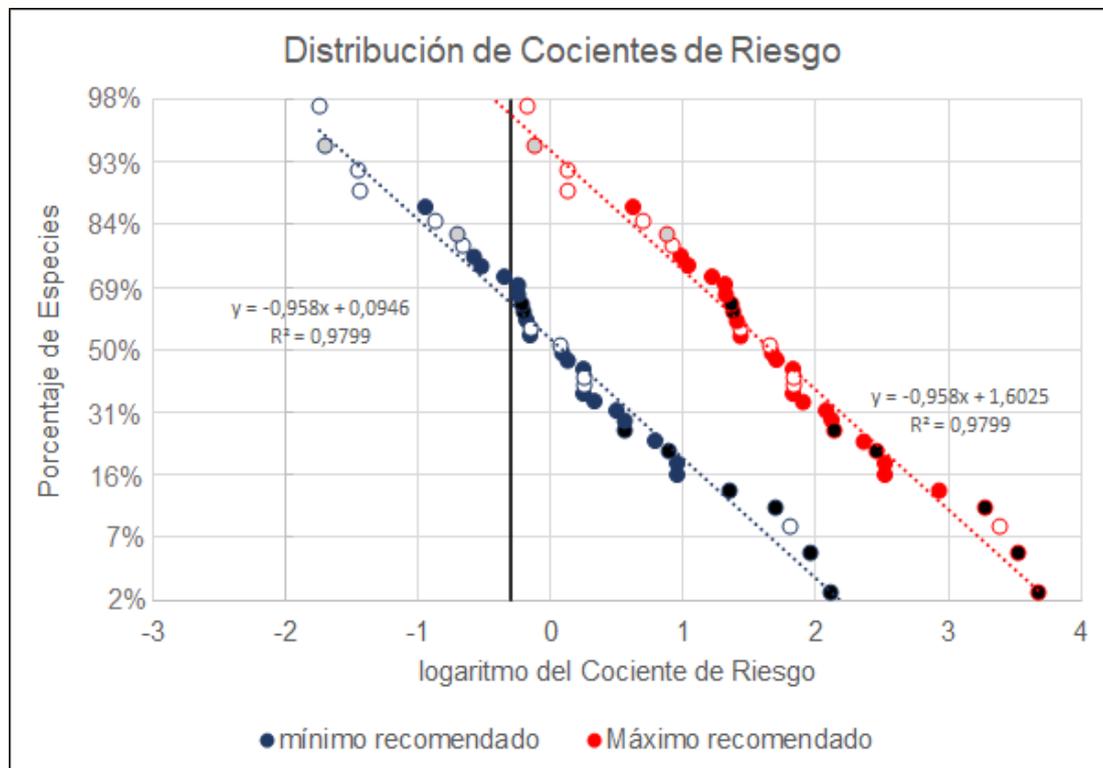


Figura 6.3 Distribuciones de los Cocientes de Riesgo Agudo para clorpirifos según las Concentraciones Ambientales Esperadas

Se muestra la distribución para las 2 situaciones extremas de aplicaciones recomendadas en Argentina. Las líneas

punteadas corresponden al ajuste de un modelo log-Normal. Círculos rellenos: aves; círculos vacíos: mamíferos; círculos grises: reptiles; círculos negros: invertebrados. La recta a $-0,301$ en el eje horizontal corresponde al valor límite de 0,5 para el Cociente de Riesgo Agudo.

Es posible entonces estimar el riesgo esperado a partir de la distribución de los Cocientes de Riesgo Agudo para todas las situaciones, directamente de los modelos ajustados, calculando los porcentajes de especies que exceden el valor límite de 0,5, situación que se muestra en la Figura 6.4. Puede observarse que todos los rangos de aplicaciones recomendadas de clorpirifos para los distintos tipos de cultivos o producciones llevan a porcentajes de especies animales terrestres que presentan peligro agudo por superar el límite establecido para el Cociente de Riesgo Agudo, de 0,5, que están por encima del 60%. El porcentaje se eleva rápidamente y ronda el 90% para Concentraciones Ambientales Esperadas del orden de 100 mg/kg, que son las estimadas para aplicaciones de 0,4 kg de clorpirifos/ha en adelante.

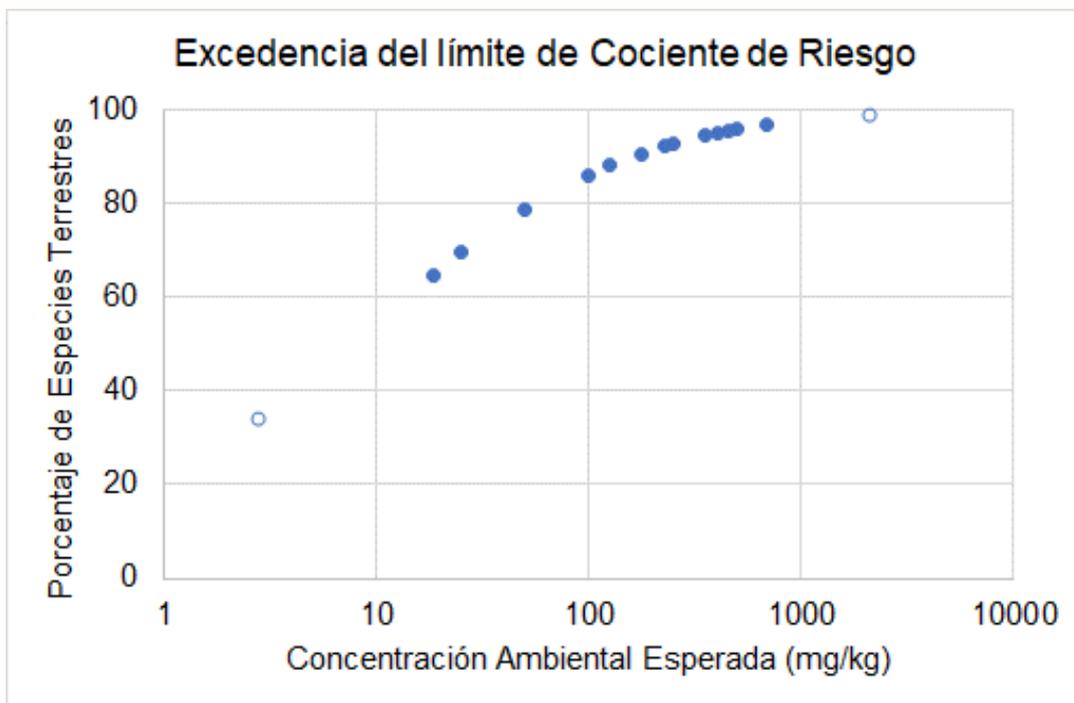


Figura 6.4 Porcentajes de especies animales terrestres que superan el valor límite de 0,5 para el Cociente de Riesgo Agudo

Los valores se calcularon aplicando un modelo log-Normal a la Distribución de Cocientes de Riesgo obtenidos para cada Concentración Ambiental Esperada según la figura 5.3. Los círculos vacíos corresponden a los valores esperados para las tasas de aplicación mínima y máxima reportadas.

6.2 Efectos sobre animales de granja y domésticos

Ya en un reporte de 1988 se citan intoxicaciones accidentales de ganado con clorpirifos, aplicado para control de ectoparásitos, causando muertes, y también una reducción del 43% en la producción de esperma en toros que no presentaron otros signos de intoxicación (Everett, 1982).

Un estudio realizado en Argentina, aplicando en forma tópica 7,5 mg de clorpirifos/kg de peso en

toros, determinó una concentración plasmática del tóxico de 28 µg/L al día siguiente de la aplicación, sin impactar las colinesterasas en plasma (Ferré et al., 2018). Un estudio previo determina que la aplicación tópica recomendada de 10 mg de clorpirifos/kg en toros causa una concentración de clorpirifos en plasma de hasta 10,5 µg/L, que se mantiene hasta las 48 horas, mientras que se obtiene una inhibición del 51% de la acetilcolinesterasa plasmática a los 14 días y del 43% de la butirilcolinesterasa a los 28 días (Picco et al., 2008).

Uno de los problemas asociados a la aplicación de acaricidas en ganado, es la aparición de poblaciones de ácaros resistentes. Un estudio reciente da cuenta de la resistencia múltiple de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) en vacunos en Brasil, llegando al 72% de los ranchos para la resistencia a clorpirifos, y resistencia cruzada a 4 acaricidas de diferentes familias en el 50% de los casos, atribuible a errores en el manejo de los productos veterinarios con exceso de aplicaciones (Vilela et al., 2020).

Otro problema importante es la bioconcentración de plaguicidas provenientes de la dieta del ganado y de los tratamientos sanitarios en la leche. Como ejemplo, un estudio realizado en Egipto da cuenta de la acumulación de 5 plaguicidas organoclorados y 3 organofosforados en muestras de leche de búfala colectadas de productores y vendedores locales, entre los que el clorpirifos excedió los Límites Máximos de Residuos en el 33% de ellas, con un rango de 1,9 – 3,5 mg/kg y una media de 3,0 mg/kg (Shaker y Elsharkawy, 2015).

El uso de clorpirifos, en conjunto con piretroides para el control de ectoparásitos, fue evaluado en ovejas de raza Merino en un estudio en Argentina en la dosis recomendada de 2,5 mg/kg, no causó efectos, mientras que 4 veces dicho valor, 10 mg/kg, causó una inhibición significativa de la colinesterasa eritrocitaria en alrededor del 50%, por un lapso de un mes, remarcando los riesgos de implementar regímenes de sanidad animal con dosis mayores a las establecidas (Larsen et al., 2019).

La administración oral de clorpirifos a pollos bebé de 7 a 15 días de edad causó signos de neurotoxicidad a 5 mg/kg de peso, con una DL50 de 18,1 mg/kg, mientras que dosis de 2 mg/kg fueron suficientes para provocar alteraciones importantes de la locomoción (Al-Badrany y Mohammad, 2007). Dosis de 3,5 mg de clorpirifos/kg de peso alteran las defensas inmunológicas en gallos jóvenes, reduciendo significativamente los recuentos de neutrófilos y linfocitos, los niveles de fosfatasa alcalina y aminotransferasas, la cantidad de albúmina y proteínas totales plasmáticas a la mitad (Ojezele y Abatan, 2009). En el gallo asiático de la variedad Broiler, la aplicación oral de 10 mg de clorpirifos/kg a pollos recién nacidos durante 14 días causó efectos similares, con la observación de efectos necróticos y degenerativos en varios órganos (Ahmad et al., 2015). Dado el uso de clorpirifos como acaricida en aves, se evaluaron los efectos en el desarrollo embrionario de la variedad Desi de pollos, inoculando entre 0,12 y 1 mg del tóxico por huevo; se observó una DL50 de 0,25 mg/huevo, mientras que 0,12-0,25 mg/huevo redujeron

significativamente todos los parámetros corporales de desarrollo, y 0,12 mg/huevo fueron suficientes para causar alteraciones teratogénicas en los embriones (Chaudhary et al., 2017).

En relación a animales domésticos, se estudió el efecto de clorpirifos a través de la dieta en perros de raza Beagle, encontrando que 1,2 mg/kg/día durante 4 semanas, y 0,5 mg/kg/día durante 6 semanas, causan un 50% de inhibición de la colinesterasa eritrocitaria (Marable et al., 2007).

Desde otro punto de vista, la aplicación de productos veterinarios en perros ha sido una preocupación por la posible transferencia de residuos a niños, particularmente para aquellos que contienen clorpirifos. En un estudio en el que se realizaron aplicaciones recomendadas de clorpirifos para control de pulgas por mojado con una solución de 15 g/L, luego de 4 aplicaciones se observaron inhibiciones del 20% en acetilcolinesterasa y del 80% en butirilcolinesterasa plasmática, mientras que la cantidad del tóxico que se transfirió por contacto (0,01 m² de superficie corporal aproximadamente) varió de 0,97 mg a las 4 horas de aplicado, a 0,16 mg a una semana, reduciéndose a 30 µg recién a los 21 días, lo que da cuenta de los riesgos tanto para las mascotas como para humanos (Boone et al., 2001). El riesgo estimado para niños, en una revisión de este trabajo del año 2001, fue de una exposición equivalente a 0,9 – 1,9 mg de clorpirifos/kg (Josephson, 2001). Un análisis de los productos excretados en orina, luego de la aplicación de un shampoo conteniendo clorpirifos en mascotas, estableció concentraciones equivalentes a 10 µg/kg/día en canes y 1 µg/kg/día en niños a los 7 días (Dyk et al., 2010). En el mismo estudio, aplicando el pulguicida mediante collar (8% de clorpirifos), se encontró una excreción sostenida en niños de hasta 0,6 µg/kg/día aún a 35 días y sin haber tenido contacto con los perros.

Considerando las concentraciones recomendadas en Argentina en tratamientos domésticos de productos para perros, por ejemplo, soluciones de 3,5% (35 g de clorpirifos/L), polvo o aerosoles al 2% (20 g/L), o collares al 10%, la exposición en niños es altamente probable y los riesgos asociados son inaceptables.

6.3 Conclusiones

Las condiciones de aplicación de productos fitosanitarios conteniendo clorpirifos en Argentina para los distintos tipos de cultivos representan un riesgo muy alto para las diversas especies terrestres, que pueden verse impactadas según lo indican los Cocientes de Riesgo, tanto para efectos tóxicos agudos como crónicos.

Los invertebrados involucran los taxones con los mayores riesgos, indicando que el clorpirifos es extremadamente tóxico, siendo el caso particular de los insectos benéficos el de mayor relevancia por las consecuencias indirectas perjudiciales que trae aparejadas sobre el éxito de control de plagas, polinización y riesgos para la salud humana por contaminación de productos alimentarios y medicinales.

Los riesgos del uso de clorpirifos en productos veterinarios para control de parásitos en animales de granja y ganado deben ser considerados cuidadosamente con respecto al seguimiento estricto de las recomendaciones terapéuticas, pudiendo igualmente provocar resistencia de los vectores plaga o situaciones de contaminación de productos derivados para la alimentación humana.

El uso de productos veterinarios conteniendo clorpirifos en la sanidad de mascotas debería ser analizado con extremo cuidado, ya que representa a nuestro criterio un riesgo completamente inaceptable para la salud del grupo familiar y fundamentalmente para los niños, en función de la información disponible que da cuenta de los niveles hallados del tóxico y sus metabolitos en humanos a partir de esta vía de exposición. El uso de estos productos puede ser perfectamente reemplazado por otros con principios activos mucho más “amigables” con el ambiente según se analiza en el Capítulo 7.

6.4 Referencias

- Ahmad M, Maqsood Ahmad M, Sarvat S. 1993. Effects of endosulfan and chlorpyrifos on the reproductive organs and sex hormones of neonatal rats. *Pak. J. Zool.* 25, 11-14.
- Ahmad MZ, Khan A, Javed MT, Hussain I. 2015. Impact of chlorpyrifos on health biomarkers of broiler chicks. *Pestic. Biochem. Physiol.* 122, 50-58. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.12.024>
- Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM. 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Curr. Biol.* 18, 1572-1575. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.066>
- Al-Badrany YMA, Mohammad FK. 2007. Effects of acute and repeated oral exposure to the organophosphate insecticide chlorpyrifos on open-field activity in chicks. *Toxicol. Lett.* 174, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.09.001>
- Al Naggar Y, Codling G, Vogt A, Naiem E, Mona M, Seif A, Giesy JP. 2015. Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (*Apis mellifera* L.) and their potential hazard to bee colonies in Egypt. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 114, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.039>
- Alaux C, Ducloz F, Crauser D, Le Conte Y. 2010. Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biol. Lett.* 6, 562-565. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986>
- Alharbi HA, Letcher RJ, Mineau P, Chen D, Chu S. 2016. Organophosphate pesticide method development and presence of chlorpyrifos in the feet of nearctic-neotropical migratory songbirds from Canada that overwinter in Central America agricultural areas. *Chemosphere* 144, 827-835. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.052>
- Arguedas R, Gómez A, Barquero MD, Chacón D, Corrales G, Hernández S, León G. 2018. Effect of exposition to chlorpyrifos upon plasmatic cholinesterases, hematology and blood biochemistry values in *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae). *Chemosphere* 205, 209-214. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.111>
- Bacci L, Picanço MC, da Silva ÉM, Martins JC, Chediak M, Sena ME. 2009. Insecticide physiological selectivity to natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Brassicae. *Cienc. e Agrotecnologia* 33, 2045-2051. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542009000700058>
- Balayiannis G, Balayiannis P. 2008. Bee honey as an environmental bioindicator of pesticides' occurrence in six agricultural areas of Greece. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 462-470. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9126-x>
- Barron MG, Woodburn KB. 1995. Ecotoxicology of Chlorpyrifos. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 144, 1-93.
- Blettler DC, Fagúndez GA, Caviglia OP. 2018. Contribution of honeybees to soybean yield. *Apidologie* 49, 101-111. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0532-4>
- Boone JS, Tyler JW, Chambers JE. 2001. Transferable residues from dog fur and plasma cholinesterase inhibition in dogs treated with a flea control dip containing chlorpyrifos. *Environ. Health Perspect.* 109, 1109-1114. <https://doi.org/10.1289/ehp.011091109>
- Brewer LW, McQuillen HL, Mayes MA, Stafford JM, Tank SL. 2003. Chlorpyrifos residue levels in avian food items following applications of a commercial EC formulation to alfalfa and citrus. *Pest Manag. Sci.* 59, 1179-1190. <https://doi.org/10.1002/ps.752>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Pascual Aguilar JA, Picó Y. 2019. A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honeybee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. *Chemosphere* 232, 471-480. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.170>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Picó Y. 2016. Efficiency of QuEChERS approach for determining 52 pesticide residues in honey and honeybees. *MethodsX* 3, 452-458. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2016.05.005>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Picó Y. 2017. Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax. *Sci. Total Environ.* 605-606, 745-754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.174>
- Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simó E, Picó Y. 2018. Pesticide residues in honeybees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. *Environ. Pollut.* 241, 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.062>
- CCME. 2008. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Chlorpyrifos. Technical Report, Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Chaudhary S, Ansari MS, Abbas MN, Kausar S, Iqbal R, Saleem R, Iqbal J, Sabir S. 2017. The Nucleus Toxic

- Effects of Chlorpyrifos on 12th Day Desi Chick Embryo (*Gallus gallus domesticus*). Nucl. 54, 136-140.
- Chautá-Mellizo A, Campbell SA, Bonilla MA, Thaler JS, Poveda K. 2012. Effects of natural and artificial pollination on fruit and offspring quality. Basic Appl. Ecol. 13, 524-532. <https://doi.org/10.1016/j.baee.2012.08.013>
- Coda J, Gomez D, Martínez JJ, Steinmann A, Priotto J. 2016. The use of fluctuating asymmetry as a measure of farming practice effects in rodents: A species-specific response. Ecol. Indic. 70, 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.06.018>
- Coda J, Gomez D, Steinmann AR, Priotto J. 2015. Small mammals in farmlands of Argentina: Responses to organic and conventional farming. Agric. Ecosyst. Environ. 211, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.05.007>
- Collange B, Wheelock CE, Rault M, Mazzia C, Capowiez Y, Sanchez-Hernandez JC. 2010. Inhibition, recovery and oxime-induced reactivation of muscle esterases following chlorpyrifos exposure in the earthworm *Lumbricus terrestris*. Environ. Pollut. 158, 2266-2272. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.009>
- Cordeiro EMG, Corrêa AS, Venzon M, Guedes RNC. 2010. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. Chemosphere 81, 1352-1357. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.021>
- Crumpton T., Seidler F., Slotkin T. 2000. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos in vivo and in vitro: effects on nuclear transcription factors involved in cell replication and differentiation. Brain Res. 857, 87-98. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02357-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02357-4)
- Cutler GC. 2013. Insects, insecticides and hormesis: evidence and considerations for study. Dose. Response. 11, 154-77. <https://doi.org/10.2203/dose-response.12-008.Cutler>
- Cutler GC, Purdy J, Giesy JP, Solomon KR. 2014. Risk to pollinators from the use of chlorpyrifos in the United States, en: Giesy, J.P., Solomon, K.R. (Eds.), Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States. Springer International Publishing, Cham, pp. 219-265. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_7
- Dai P, Jack CJ, Mortensen AN, Bustamante TA, Bloomquist JR, Ellis JD. 2019. Chronic toxicity of clothianidin, imidacloprid, chlorpyrifos, and dimethoate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. Pest Manag. Sci. 75, 29-36. <https://doi.org/10.1002/ps.5124>
- Das Gupta R, Chakravorty PP, Kaviraj A. 2011. Susceptibility of epigeic earthworm *Eisenia fetida* to agricultural application of six insecticides. Chemosphere 84, 724-726. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.016>
- Davie-Martin CL, Hageman KJ, Chin Y-P. 2013. An Improved Screening Tool for Predicting Volatilization of Pesticides Applied to Soils. Environ. Sci. Technol. 47, 868-876. <https://doi.org/10.1021/es3020277>
- De Lange H, Lahr J, Van Der Pol JC, Wessels Y, Faber J. 2009. Ecological vulnerability in wildlife: and expert judgement and multicriteria analysis tool to assess relative impact of pollutants. Environ. Toxicol. Chem. 28, 2233-2240.
- De Silva PMCS, Pathiratne A, van Gestel CAM. 2010. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. Appl. Soil Ecol. 44, 56-60. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.09.005>
- De Solla SR, Martin PA. 2011. Absorption of current use pesticides by snapping turtle (*Chelydra serpentina*) eggs in treated soil. Chemosphere 85, 820-825. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.080>
- De Solla SR, Palonen KE, Martin PA. 2014. Toxicity of pesticides associated with potato production, including soil fumigants, to snapping turtle eggs (*Chelydra Serpentina*). Env1 ironmental Toxicol. Chem. 33, 102-106. <https://doi.org/10.1002/etc.2393>
- Deacon MM, Murray JS, Pilny MK, Rao KS, Dittenber DA, Hanley TR, John JA. 1980. Embryotoxicity and fetotoxicity of orally administered chlorpyrifos in mice. Toxicol. Appl. Pharmacol. 54, 31-40. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90005-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90005-8)
- Decarie R, DesOranges J-L, Lepine C, Morneau F. 1993. Impact of insecticides on the American robin (*Turdus migratorius*) in a suburban environment. Env. Pollut 80, 231-238.
- Delaplane KS, Mayer DF. 2000. Crop pollination by bees. CAB eBooks. <https://doi.org/10.1079/9780851994482.0000>
- Delpuech JM, Meyet J. 2003. Reduction in the sex ratio of the progeny of a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*) surviving the insecticide chlorpyrifos. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45, 203-208. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-0146-2>
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech J-M. 2007. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods.

- Annu. Rev. Entomol. 52, 81-106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Dittrich R, Giessing B. 2019. Multiyear monitoring of bird communities in chlorpyrifos-treated orchards in Spain and the United Kingdom: Spatial and Temporal Trends in Species Composition , Abundance , and Site Fidelity 38, 616-629. <https://doi.org/10.1002/etc.4317>
- Dyk MB, Chen Z, Mosadeghi S, Vega H, Krieger R. 2010. Pilot biomonitoring of adults and children following use of chlorpyrifos shampoo and flea collars on dogs. J. Environ. Sci. Health. B. 46, 97-104. <https://doi.org/10.1080/03601234.2011.534966>
- Eidels R, Whitaker Jr. J, Sparks D. 2007. Insecticide residues in bats and guano from Indiana. Proc. Indiana Acad. Sci. 116, 50-57.
- Eidels RR, Sparks DW, Whitaker JO, Sprague CA. 2016. Sub-lethal effects of chlorpyrifos on big brown bats (*Eptesicus fuscus*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 71, 322-335. <https://doi.org/10.1007/s00244-016-0307-3>
- Eng ML, Stutchbury BJM, Morrissey CA. 2017. Imidacloprid and chlorpyrifos insecticides impair migratory ability in a seed-eating songbird. Sci. Rep. 7, 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15446-x>
- Everett RW. 1982. Effect of Dursban 44 on Semen Output of Holstein Bulls. J. Dairy Sci. 65, 1781-1794. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82417-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82417-X)
- Fagúndez GA, Blettler DC, Krumrick CG, Bertos MA, Trujillo CG. 2016. Do agrochemicals used during soybean flowering affect the visits of *apis mellifera* L.? Spanish J. Agric. Res. 14. <https://doi.org/10.5424/sjar/2016141-7492>
- Farag AT, El Okazy AM, El-Aswed AF. 2003. Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats. Reprod. Toxicol. 17, 203-208.
- Fernandes MES, Alves FM, Pereira RC, Aquino LA, Fernandes FL, Zanuncio JC. 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. Chemosphere 156, 45-55. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.115>
- Ferré DM, Lentini VR, Romano RR, Ludueña HR, Jotallán PJ, Gorla NBM. 2018. Reference values for acetyl and butyrylcholinesterases in cattle under actual management conditions, hepatic and renal function by application of chlorpyrifos. J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes 53, 191-198. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1405622>
- Fleischli MA, Franson JC, Thomas NJ, Finley DL, Riley W. 2004. Avian mortality events in the United States caused by anticholinesterase pesticides: A retrospective summary of National Wildlife Health Center records from 1980 to 2000. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 46, 542-550. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-3065-y>
- Fountain MT, Brown VK, Gange AC, Symondson WOC, Murray PJ. 2007. The effects of the insecticide chlorpyrifos on spider and Collembola communities. Pedobiologia (Jena). 51, 147-158. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2007.03.001>
- Frampton GK, van den Brink PJ. 2007. Collembola and macroarthropod community responses to carbamate, organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides: Direct and indirect effects. Environ. Pollut. 147, 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.038>
- Fulton CA, Huff Hartz KE, Fell RD, Brewster CC, Reeve JD, Lydy MJ. 2019. An assessment of pesticide exposures and land use of honeybees in Virginia. Chemosphere 222, 489-493. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.156>
- Gaines TB. 1969. Acute toxicity of pesticides. Toxicol. Appl. Pharmacol. 14, 515-534. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(69\)90013-1](https://doi.org/10.1016/0041-008X(69)90013-1)
- García-Gómez C, Babín M, García S, Almendros P, Pérez RA, Fernández MD. 2019. Joint effects of zinc oxide nanoparticles and chlorpyrifos on the reproduction and cellular stress responses of the earthworm *Eisenia andrei*. Sci. Total Environ. 688, 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.083>
- García García M, Ríos Osorio LA, Álvarez del Castillo J. 2016. La polinización en los sistemas de producción agrícola: Revisión sistemática de la literatura. Idesia 34, 51-66. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292016000300008>
- Garrido S, Cichón L, Lago J, Navarro MD, Herrera ME, Becerra V. 2018. Evaluation of the oviposition of *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethyilidae) on different Lepidoptera of fruit and vegetable interest. Acta Zool. Lilloana 62, 118-121.
- Gile J, Meyers S. 1986. Effect of adult mallard age on avian reproductive tests. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 15, 751-756.
- Goebel KM, Davros NM. 2018. Evaluating grassland wildlife exposure to soybean aphid insecticides on public

- lands in Minnesota, MNDNR Summaries of Wildlife Research Findings.
- Grabuski J, Martin P, Struger J. 2004. A critical assessment of potential toxicity of urban use products to wildlife, with consideration for endocrine disruption. Technical Report. Volume 3: Phenoxy herbicides, chlorothalonil and chlorpyrifos. Canadian Wildlife Service, Ontario Region, Burlington, Ontario, Canada.
- Guedes RNC, Magalhães LC, Cosme L V. 2009. Stimulatory Sublethal Response of a Generalist Predator to Permethrin: Hormesis, Hormoligosis, or Homeostatic Regulation? *J. Econ. Entomol.* 102, 170-176. <https://doi.org/10.1603/029.102.0124>
- Hill EF, Camardese MB. 1984. Toxicity of anticholinesterase insecticides to birds: Technical grade versus granular formulations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 8, 551-563. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(84\)90015-0](https://doi.org/10.1016/0147-6513(84)90015-0)
- Hudson RH, Tucker RK, Haegele M. 1984. Handbook of toxicity of pesticides to wildlife. Washington, D.C.
- Hudson RH, Tucker RK, Haegele MA. 1972. Effect of age on sensitivity: Acute oral toxicity of 14 pesticides to mallard ducks of several ages. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 22, 556-561. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(72\)90284-0](https://doi.org/10.1016/0041-008X(72)90284-0)
- Jackson GJ, Ford JB. 1973. The feeding behaviour of *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae), particularly as affected by certain pesticides. *Ann. Appl. Biol.* 75, 165-171. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1973.tb07296.x>
- Jager T, Crommentuijn T, van Gestel CAM, Kooijman SALM. 2007. Chronic exposure to chlorpyrifos reveals two modes of action in the springtail *Folsomia candida*. *Environ. Pollut.* 145, 452-458. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.028>
- Jegade OO, Owojori OJ, Römbke J. 2017. Temperature influences the toxicity of deltamethrin, chlorpyrifos and dimethoate to the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* (Acari) and the springtail *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 140, 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.046>
- Josephson J. 2001. How risky is rover? Petting transfers pesticides. *Environ. Health Perspect.* 109, 543.
- Joshi SC, Mathur R, Gulati N. 2007. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol. Ind. Health* 23, 439-444. <https://doi.org/10.1177/0748233707080908>
- Kenaga EE. 1974. Evaluation of the safety of chlorpyrifos to birds in areas treated for insect control. *Residue Rev.* 50, 1-43.
- Kiljanek T, Niewiadowska A, Gawel M, Semeniuk S, Borzęcka M, Posyniak A, Pohorecka K. 2017. Multiple pesticide residues in live and poisoned honeybees – Preliminary exposure assessment. *Chemosphere* 175, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.028>
- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 274, 303-313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Lambert O, Lanie Piroux M, Puyo S, Thorin C, L'hostis M, Wiest L, Buleté A, Dé Ric Delbac F, Pouliquen H. 2013. Widespread occurrence of chemical residues in beehive matrices from apiaries located in different landscapes of Western France. *PLoS One* 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067007>
- Larsen KE, Lifschitz AL, Lanusse CE, Virkel GL. 2019. In vitro and in vivo effects of chlorpyrifos and cypermethrin on blood cholinesterases in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 42, 548-555. <https://doi.org/10.1111/jvp.12798>
- Le Conte Y, Ellis M, Ritter W. 2010. Varroa mites and honeybee health: Can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie.* <https://doi.org/10.1051/apido/2010017>
- Lee I, Eriksson P, Fredriksson A, Buratovic S, Viberg H. 2015. Developmental neurotoxic effects of two pesticides: Behavior and biomolecular studies on chlorpyrifos and carbaryl. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 288, 429-438. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.08.014>
- Li ZG, Li M, Huang JN, Ma CS, Xiao LC, Huang Q, Zhao YZ, Nie HY, Su SK. 2017. Effects of sublethal concentrations of chlorpyrifos on olfactory learning and memory performances in two bee species, *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Sociobiology* 64, 174-181. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v64i2.1385>
- López-Lanús B, Roesler I, Blanco D, Petracci P, Serra M, Zaccagnini M. 2007. Bobolink (*Dolichonyx oryzivorus*) numbers and non breeding ecology in the rice fields of San Javier, Santa Fe Province, Argentina. *Ornitol. Neotrop.* 18, 493-502.
- López González EC, Siroski PA, Poletta GL. 2019. Genotoxicity induced by widely used pesticide binary mixtures on *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman). *Chemosphere* 232, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.218>
- Maggi M, Antúnez K, Invernizzi C, Aldea P, Vargas M, Negri P, Brasesco C, De Jong D, Message D, Teixeira EW, Principal J, Barrios C, Ruffinengo S, Da Silva RR, Eguaras M. 2016. Honeybee health in South

- America. *Apidologie*. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0445-7>
- Mallinger RE, Gratton C. 2015. Species richness of wild bees, but not the use of managed honeybees, increases fruit set of a pollinator-dependent crop. *J. Appl. Ecol.* 52, 323-330. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12377>
- Mamczarz J, Pescrille JD, Gavrushenko L, Burke RD, Fawcett WP, DeTolla LJ, Chen H, Pereira EFR, Albuquerque EX. 2016. Spatial learning impairment in prepubertal guinea pigs prenatally exposed to the organophosphorus pesticide chlorpyrifos: Toxicological implications. *Neurotoxicology* 56, 17-28. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.06.008>
- Marable BR, Maurissen JPJ, Mattsson JL, Billington R. 2007. Differential sensitivity of blood, peripheral, and central cholinesterases in beagle dogs following dietary exposure to chlorpyrifos. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47, 240-248. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.10.004>
- Marshall W, Roberts J. 1978. *Ecotoxicology of chlorpyrifos*. National Research Council Canada. Subcommittee on Pesticides and Related Compounds.
- Martin P. 1990. Effects of carbofuran, chlorpyrifos and deltamethrin on hatchability, deformity, chick size and incubation time of Japanese quail (*Coturnix japonica*) eggs. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 529-534.
- Mateo R, Sánchez-Barbudo IS, Camarero PR, Martínez JM. 2015. Risk assessment of bearded vulture (*Gypaetus barbatus*) exposure to topical antiparasitics used in livestock within an ecotoxicovigilance framework. *Sci. Total Environ.* 536, 704-712. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.109>
- Mcart SH, Fersch AA, Milano NJ, Truitt LL, Böröczky K. 2017. High pesticide risk to honeybees despite low focal crop pollen collection during pollination of a mass blooming crop. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/srep46554>
- McCullister SB, Kociba RJ, Humiston CG, McCullister DD, Gehring PJ. 1974. Studies of the acute and long-term oral toxicity of chlorpyrifos (O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate). *Food Cosmet. Toxicol.* 12, 45-61. [https://doi.org/10.1016/0015-6264\(74\)90321-6](https://doi.org/10.1016/0015-6264(74)90321-6)
- McEwen L, DeWeese L, Schladweiler P. 1986. Bird predation on cutworms (Lepidoptera: Noctuidae) in wheat fields and chlorpyrifos effects on brain cholinesterase activity. *Environ. Entomol.* 15, 147-151.
- Medici SK, Blando M, Sarlo E, Maggi M, Espinosa JP, Ruffinengo S, Bianchi B, Eguaras M, Recavarren M. 2020. Pesticide residues used for pest control in honeybee colonies located in agroindustrial areas of Argentina. *Int. J. Pest Manag.* <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1597996>
- Mestre AP, Amavet PS, van der Sloot IS, Carletti JV, Poletta GL, Siroski PA. 2020. Effects of glyphosate, cypermethrin, and chlorpyrifos on hematological parameters of the tegu lizard (*Salvator merianae*) in different embryo stages. *Chemosphere* 252. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126433>
- Mestre AP, Amavet PS, Vanzetti AI, Moleón MS, Parachú Marcó MV, Poletta GL, Siroski PA. 2019. Effects of cypermethrin (pyrethroid), glyphosate and chlorpyrifos (organophosphorus) on the endocrine and immune system of *Salvator merianae* (Argentine tegu). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 169, 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.057>
- Meyers SM, Gile JD. 1986. Mallard reproductive testing in a pond environment: A preliminary study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15, 757-761. <https://doi.org/10.1007/BF01054923>
- Meyers SM, Marden BT, Bennett RS, Bentley R. 1992. Comparative response of nestling European starlings and red-winged blackbirds to an oral administration of either dimethoate or chlorpyrifos. *J. Wildl. Dis.* 28, 400-406. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.3.400>
- Monasterolo M, Musicante ML, Valladares GR, Salvo A. 2015. Soybean crops may benefit from forest pollinators. *Agric. Ecosyst. Environ.* 202, 217-222. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.01.012>
- Moore DRJ, Teed RS, Greer CD, Solomon KR, Giesy JP. 2014. Refined avian Risk Assessment for chlorpyrifos in the United States, en: Giesy, J., Solomon, K. (Eds.), *Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States, Reviews of Environmental Contamination, 231 and Toxicology*. pp. 163-217. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_6
- Moye JK, Pritsos CA. 2010. Effects of chlorpyrifos and aldicarb on flight activity and related cholinesterase inhibition in homing pigeons, *Columba livia*: Potential for migration effects. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 84, 677-681. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0020-2>
- Muller M, Hess L, Tardivo A, Lajmanovich R, Attademo A, Poletta G, Simoniello MF, Yodice A, Lavarello S, Chialvo D, Scremin O. 2014. Neurologic dysfunction and genotoxicity induced by low levels of chlorpyrifos. *Neurotoxicology* 45, 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.08.012>
- Mullie Wim C., Keith JO. 1993. The effects of aerially applied fenitrothion and chlorpyrifos on birds in the savannah of Northern Senegal. *J. Appl. Ecol.* 30, 536. <https://doi.org/10.2307/2404193>

- Mullie Wim C, Keith JO. 1993. Locusticide impact on birds in northern Senegal, en: Birds and the African environment : proceedings of the Eighth Pan-African Ornithological Congress. pp. 617-620.
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, VanEngelsdorp D, Pettis JS. 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honeybee health. PLoS One 5, e9754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754>
- Narváez C, Ríos JM, Píriz G, Sanchez-Hernandez JC, Sabat P. 2016. Subchronic exposure to chlorpyrifos affects energy expenditure and detoxification capacity in juvenile Japanese quails. Chemosphere 144, 775-784. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.060>
- Odenkirchen E, Eisler R. 1988. Chlorpyrifos hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Technical Report. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.85 (1.13).
- Odetti LM, López González EC, Romito ML, Simoniello MF, Poletta GL. 2020. Genotoxicity and oxidative stress in Caiman latirostris hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. Ecotoxicol. Environ. Saf. 193, 110312. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110312>
- Ojezele M, Abatan O. 2009. Toxicological effects of chlorpyrifos and methidathion in young chickens. African J. Biochem. Res. 3, 48-51.
- Olea PP, Mateo R, Mateo-toma P. 2012. Alleviating human – wildlife conflicts: identifying the causes and mapping the risk of illegal poisoning of wild fauna. J Appl Ecol 49, 376-385. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2012.02119.x>
- Ortiz-Santaliestra ME, Maia JP, Egea-Serrano A, Brühl CA, Lopes I. 2017. Biological relevance of the magnitude of effects (considering mortality, sub-lethal and reproductive effects) observed in studies with amphibians and reptiles in view of population level impacts on amphibians and reptiles, European Food Safety Authority Supporting Publications. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.en-1251>
- Panseri S, Catalano A, Giorgi A, Arioli F, Procopio A, Britti D, Chiesa LM. 2014. Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources. Food Control 38, 150-156. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.024>
- Pareja L, Colazzo M, Pérez-Parada A, Niell S, Carrasco-Letelier L, Besil N, Cesio MV, Heinzen H. 2011. Detection of pesticides in active and depopulated beehives in Uruguay. Int. J. Environ. Res. Public Heal. 8, 3844-3858. <https://doi.org/10.3390/ijerph8103844>
- Picco EJ, Fernández HR, Díaz David DC, San Andrés MI, Boggio JC, Rodríguez C. 2008. Use of cholinesterase activity in monitoring chlorpyrifos exposure of steer cattle after topical administration. J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes 43, 405-409. <https://doi.org/10.1080/03601230802062158>
- Pinnock Branford M, de la Cruz V, Solano K, Ramírez O. 2014. Pesticide exposure on sloths (*Bradypus variegatus* and *Choloepus hoffmanni*) in an agricultural landscape of Northeastern Costa Rica. J. Environ. Biol. 35, 29-34.
- Potter DA, Buxton MC, Redmond CT, Patterson CG, Powell AJ. 1990. Toxicity of pesticides to earthworms (*Oligochaeta: Lumbricidae*) and effect on thatch degradation in Kentucky bluegrass turf. J. Econ. Entomol. 83, 2362-2369. <https://doi.org/10.1093/jee/83.6.2362>
- Quadri Adrogué A, Miglioranza KSB, Copello S, Favero M, Seco Pon JP. 2019. Pelagic seabirds as biomonitors of persistent organic pollutants in the Southwestern Atlantic. Mar. Pollut. Bull. 149, 110516. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110516>
- Rader R, Edwards W, Westcott DA, Cunningham SA, Howlett BG. 2013. Diurnal effectiveness of pollination by bees and flies in agricultural Brassica rapa: Implications for ecosystem resilience. Basic Appl. Ecol. 14, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.10.011>
- Rahman MF, Mahboob M, Danadevi K, Saleha Banu B, Grover P. 2002. Assessment of genotoxic effects of chlorpyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 516, 139-147. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00033-5](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00033-5)
- Rao JV, Pavan ĀYS, Madhavendra SS. 2003. Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia foetida*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 54, 296-301.
- Rasheed MA, Khan MM, Hafeez M, Zhao J, Islam Y, Ali S, Ur-Rehman S, E-Hani U, Zhou X. 2020. Lethal and sublethal effects of chlorpyrifos on biological traits and feeding of the aphidophagous predator *harmonia axyridis*. Insects 11, 1-15. <https://doi.org/10.3390/insects11080491>
- Reinecke SA, Reinecke AJ. 2007. Biomarker response and biomass change of earthworms exposed to chlorpyrifos in microcosms. Ecotoxicol. Environ. Saf. 66, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.007>

- Reinhard J, Srinivasan M V. 2009. The role of scents in honeybee foraging and recruitment, en: Jarau, S., Hrnrcir, M. (Eds.), Food exploitation by social insects: ecological, behavioral, and theoretical approaches. Taylor & Francis Group, pp. 65-182. <https://doi.org/10.1201/9781420075618.ch9>
- Requier F, Andersson GKS, Oddi FJ, Garcia N, Garibaldi LA. 2018. Perspectives from the survey of honey bee colony losses during 2015–2016 in Argentina. *Bee World* 95, 9-12. <https://doi.org/10.1080/0005772x.2018.1413620>
- Rhodes J. 2002. Cotton pollination by honeybees. *Aust. J. Exp. Agric.* 42, 513-518. <https://doi.org/10.1071/EA01063>
- Rinderer TE, Rothenbuhler WC, Gochnauer TA. 1974. The influence of pollen on the susceptibility of honey-bee larvae to *Bacillus* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 23, 347-350. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-2011\(74\)90100-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-2011(74)90100-1)
- Roger C, Vincent C, Coderre D. 1995. Mortality and predation efficiency of *Coleomegilla maculata lengi* Timb. (Col., Coccinellidae) following application of Neem extracts (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). *J. Appl. Entomol.* 119, 439-443. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1995.tb01315.x>
- Sáez A, Negri P, Viel M, Aizen MA. 2019. Pollination efficiency of artificial and bee pollination practices in kiwifruit. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 246, 1017-1021. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.072>
- Sanchez-Hernandez JC, Narvaez C, Sabat P, Martínez Mocillo S. 2014. Integrated biomarker analysis of chlorpyrifos metabolism and toxicity in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *Sci. Total Environ.* 490, 445-455. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.037>
- Santos E, Mendoza Y, Vera M, Carrasco-Letelier L, Díaz S, Invernizzi C. 2013. Aumento en la producción de semillas de soja (*Glycine max*) empleando abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Agrociencia Uruguay* 17, 81-90. <https://doi.org/10.2477/vol17iss1pp81-90>
- Schafer E, Brunton R. 1979. Indicator bird species for toxicity determinations: Is the technique usable in test method development?, en: Beck, J. (Ed.), *Vertebrate Pest Control and Management Materials*. ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, pp. 157-158. <https://doi.org/10.1520/STP34970S>
- Schafer EW. 1972. The acute pharmaceutical oral toxicity of 369 pesticidal, and other chemicals to wild birds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 21, 315-330.
- Schafer EW, Bowles WA, Hurlbut J. 1983. The acute oral toxicity, repellency, and hazard potential of 998 chemicals to one or more species of wild and domestic birds. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* 12, 355-382.
- Schom C, Abbott U, Walker N. 1973. Organophosphorus pesticide effects on domestic and game bird species: Dursban. *Poult. Sci.* 41, 2083.
- Shaker EM, Elsharkawy EE. 2015. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in raw buffalo milk from agroindustrial areas in Assiut, Egypt. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39, 433-440. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.005>
- Shimshoni JA, Evgeny E, Lublin A, Cuneah O, King R, Horowitz I, Shlosberg A. 2012. Determination of brain cholinesterase activity in normal and pesticide exposed wild birds in Israel. *Isr. J. Vet. Med.* 67, 214-219.
- Smith GJ. 1987. Pesticide use and toxicology in relation to wildlife: organophosphorus and carbamate compounds. Technical Report. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- Solomon KR, Giesy JP, Kendall RJ, Best LB, Coats JR, Dixon KR, Hooper MJ, Kenaga EE, McMurry ST. 2001. Chlorpyrifos: Ecotoxicological risk assessment for birds and mammals in corn agroecosystems. *Hum. Ecol. Risk Assess. An Int. J.* 7, 497-632. <https://doi.org/10.1080/20018091094510>
- Solomon KR, Williams WM, Mackay D, Purdy J, Giddings JM, Giesy JP. 2014. Properties and uses of chlorpyrifos in the United States, en: Giesy, J.P., Solomon, K.R. (Eds.), *Ecological Risk Assessment for Chlorpyrifos in Terrestrial and Aquatic Systems in the United States*. pp. 13-34. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03865-0_2
- Sotomayor V, Chiriotto T, Pechen AM, Venturino A. 2015. Biochemical biomarkers of sublethal effects in *Rhinella arenarum* late gastrula exposed to the organophosphate chlorpyrifos. *Pestic. Biochem. Physiol.* 119, 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.02.006>
- Suliman, Khan A, Shah SSA, Gulfam N, Khisroon M, Zahoor M. 2020. Toxicity evaluation of pesticide chlorpyrifos in male Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 25353-25362. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08953-4>
- Tiwari RK, Singh S, Pandey RS. 2019. Assessment of acute toxicity and biochemical responses to chlorpyrifos, cypermethrin and their combination exposed earthworm, *Eudrilus eugeniae*. *Toxicol. Reports* 6, 288-297.

<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.03.007>

- Tong Z, Duan J, Wu Y, Liu Q, He Q, Shi Y, Yu L, Cao H. 2018. A survey of multiple pesticide residues in pollen and beebread collected in China. *Sci. Total Environ.* 640-641, 1578-1586. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.424>
- Tosi S, Costa C, Vesco U, Quaglia G, Guido G. 2018. A 3-year survey of Italian honeybee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. *Sci. Total Environ.* 615, 208-218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.226>
- Tucker R, Crabtree D. 1970. Handbook of toxicity of pesticides to wildlife. Technical Report. U.S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife.
- Tucker RK, Haegele MA. 1971. Comparative acute oral toxicity of pesticides to six species of birds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 20, 57-65. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(71\)90088-3](https://doi.org/10.1016/0041-008X(71)90088-3)
- Urlacher E, Monchanin C, Rivière C, Richard F-J, Lombardi C, Michelsen-Heath S, Hageman KJ, Mercer AR. 2016. Measurements of chlorpyrifos levels in forager bees and comparison with levels that disrupt honeybee odor-mediated learning under laboratory conditions. *J. Chem. Ecol.* 42, 127-138. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0672-4>
- US EPA. 2006. Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos, US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs.
- vanEngelsdorp D, Meixner MD. 2010. A historical review of managed honeybee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J. Invertebr. Pathol.* 103, S80-S95. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>
- Ventura C, Nieto MRR, Bourguignon N, Lux-Lantos V, Rodriguez H, Cao G, Randi A, Cocca C, Núñez M. 2016. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 156, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.10.010>
- Vergara CH, Badano EI. 2009. Pollinator diversity increases fruit production in Mexican coffee plantations: The importance of rustic management systems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 129, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.08.001>
- Vilela VLR, Feitosa TF, Bezerra RA, Klafke GM, Riet-Correa F. 2020. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 11, 101413. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101413>
- Villalba A, Maggi M, Ondarza PM, Szawarski N, Miglioranza KSB. 2020. Influence of land use on chlorpyrifos and persistent organic pollutant levels in honey bees, bee bread and honey: Beehive exposure assessment. *Sci. Total Environ.* 713, 136554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136554>
- Wahl O, Ulm K. 1983. Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honeybee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* 59, 106-128. <https://doi.org/10.1007/BF00388082>
- Watkins de Jong E, DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Graham H, Ziolkowski N. 2019. Effects of diets containing different concentrations of pollen and pollen substitutes on physiology, *Nosema* burden, and virus titers in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 50, 845-858. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00695-8>
- Watts M. 2012. Chlorpyrifos as a possible global POP. Technical Report. Pesticide Action Network North America, Oakland, CA.
- Wolf C, Riffel M, Weyman G, Douglas M, Norman S. 2010. Telemetry-based field studies for assessment of acute and short-term risk to birds from spray applications of chlorpyrifos. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 1795-1803. <https://doi.org/10.1002/etc.227>
- Yang Y, Ma S, Yan Z, Liu F, Diao Q, Dai P. 2019. Effects of three common pesticides on survival, food consumption and midgut bacterial communities of adult workers *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Environ. Pollut.* 249, 860-867. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.077>
- Zheng Q, Olivier K, Won YK, Pope CN. 2000. Comparative cholinergic neurotoxicity of oral chlorpyrifos exposures in preweanling and adult rats. *Toxicol. Sci.* 55, 124-132. <https://doi.org/10.1093/toxsci/55.1.124>
- Zhu Lei, Li B, Wu R, Li W, Wang Jun, Wang Jinhua, Du Z, Juhasz A, Zhu Lusheng. 2020. Acute toxicity, oxidative stress and DNA damage of chlorpyrifos to earthworms (*Eisenia fetida*): The difference between artificial and natural soils. *Chemosphere* 255, 126982. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126982>
- Zhu W, Schmeihl DR, Mullin CA, Frazier JL. 2014. Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honeybee larvae. *PLoS One* 9, e77547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077547>